

N° d'ORDRE :
16

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

Mention SCIENCES

PAR

Georges FLEURY

PHARMACIEN DE 1^{re} CLASSE

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX (MENTION PHARMACIE)

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A LA BIOLOGIE DU BACILLE COLI.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenue le 13 mars 1935 devant la Commission d'examen.

JURY:

Président.....	MM. GENEVOIS, professeur,
	AVEL, maître de conférences,
Examineurs	CHOUARD, maître de conférences,
	R. SIGALAS, professeur.

BORDEAUX

IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DE L'UNIVERSITÉ

Y. CADORET, DELMAS, SUCCESSEUR

6, Place Saint-Christoly

1935

N° D'ORDRE :
16

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

Mention SCIENCES

PAR

Georges FLEURY

PHARMACIEN DE 1^{re} CLASSE

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX (MENTION PHARMACIE)

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A LA BIOLOGIE DU BACILLE COLI.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenue le 13 mars 1935 devant la Commission d'examen.

JURY:

Président.....	MM. GENEVOIS, professeur,
Examineurs	AVEL, maître de conférences,
	CHOUARD, maître de conférences,
	R. SIGALAS, professeur.

BORDEAUX

IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DE L'UNIVERSITÉ

Y. CADORET, DELMAS, SUCCESSEUR

6, Place Saint-Christoly

1935

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DES SCIENCES

MM.

<i>Doyen.....</i>	CHAI N E	Anatomie comparée et Embryogénie.
<i>Doyens honoraires...</i>	PADÉ	Recteur de l'Académie de Dijon.
	PICART	Astronomie.
	DUPONT	Prof ^r à la Faculté des Sciences de Paris.
<i>Professeurs honoraires...</i>	BÉNARD .	
	VIGOUROUX .	
	SAUVAGEAU .	
	BOUNHIOL .	
	DEVAUX .	
	RICHARD .	
	DUPONT .	
	PICART	Astronomie.
	GUINCHANT .	Physique générale.
	CHAI N E	Anatomie comparée et Embryogénie.
	TROUSSET ...	Mécanique rationnelle.
	MERCIER	Physique expérimentale.
	DAGUIN	Géologie et Minéralogie.
	DAURE	Physique.
<i>Professeurs...</i>	FEYTAUD	Zoologie et Physiologie animale.
	DANGEARD ..	Botanique.
	GENEVOIS ...	Physiologie végétale et chimie biologique.
	MILLOUX ...	Calcul infinitésimal et Analyse supérieure.
	TRUCHET	Chimie organique.
	N	Chimie minérale et Chimie physique.
<i>Chargé de cours.</i>	QUÉLET .	
<i>Maître de conf. honore.</i>	MANVILLE .	
<i>Maîtres de conférences..</i>	AVEL	Zoologie.
	BRUS	Chimie.
	CHOUARD ...	Botanique.
<i>Maître de conf. adjoint</i>	ARRIVAUT .	
<i>Secrétaire...</i>	ARTIGUELONG .	



PREMIÈRE THÈSE

**Contribution à la biologie
du bacille coli.**

AVANT-PROPOS

Avant d'exposer notre thèse, nous nous devons de remercier ceux qui nous ont conseillé et aidé.

Nous adressons l'expression de notre gratitude au directeur de la Station biologique d'Arcachon, M. le Professeur R. Sigalas, qui nous a ouvert toutes grandes les portes des laboratoires marins et a mis à notre disposition le personnel et le matériel dont nous pouvions avoir besoin.

Que M. Genevois, Professeur à la Faculté des sciences de Bordeaux, qui a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire, et dont les conseils, toujours si bienveillants, nous ont continuellement guidé dans notre travail, veuille bien agréer ici, avec nos remerciements, l'hommage de notre reconnaissance.

INTRODUCTION

Le bacille coli est un des germes qui ont été le plus étudiés. C'est aussi un des moins connus.

La médecine veut voir dans le bacille coli l'agent de certaines infections, mais elle ne peut expliquer en quoi et comment le bacille coli, de saprophyte, devient pathogène.

L'hygiène veut voir dans le bacille coli un germe dangereux, moins en soi que comme témoin de la présence d'autres bacilles particulièrement redoutables, mais ce n'est là qu'une opinion conjecturale.

La bactériologie veut voir dans le bacille coli une bactérie définie par des caractères différentiels précis, mais le bacille coli constitue-t-il vraiment une espèce ? ou bien le groupe naturel des bacilles coliformes ne serait-il pas uniquement formé de simples variétés du bacille coli ? La question n'est pas nouvelle. Elle a été posée en 1889 par G. Roux et A. Rodet. Elle n'est pas encore résolue.

La biologie elle-même veut voir dans le bacille coli un microbe universellement répandu dans la nature, et il est classique d'admettre qu'on le rencontre dans le contenu intestinal de tous les animaux. Mais est-ce bien exact, et n'y aurait-il pas lieu de procéder à de nombreuses vérifications ?

*
* *

Le présent travail est le résultat de quatre années de recherches.

Il se divise en trois parties bien distinctes :

PREMIÈRE PARTIE. — Une première partie expose surtout une méthode personnelle de recherche et d'identification du bacille coli et les applications qu'on peut en faire.

Cette méthode générale, qui présente des avantages certains sur celles employées jusqu'à présent, est assez souple pour s'adapter, moyennant certaines modifications de détail, aux recherches du bacille coli partout où il peut se trouver.

Notre milieu de culture se prête, en effet, aussi bien à l'ensemencement en stries qu'à l'ensemencement direct d'une eau à examiner, et, légèrement modifié, il devient le milieu de choix pour l'hémoculture.

DEUXIÈME PARTIE. — Une deuxième partie rend compte de nos recherches du bacille coli dans le contenu intestinal des animaux.

Ces recherches ont eu pour point de départ une idée maîtresse de M. le Professeur Mandoul : c'est le Professeur Mandoul, en effet, qui, au début de 1931, nous a chargé de vérifier son hypothèse, selon laquelle les poissons ne vivant qu'en haute mer, dans un milieu exempt de bacille coli, ne sauraient présenter du bacille coli dans leur tube digestif.

Par la suite, nous avons élargi le champ de nos investigations.

Chemin faisant, nous avons pu mettre en évidence des faits nouveaux et apporter quelques précisions à la biologie du bacille coli.

TROISIÈME PARTIE. — Dans la troisième partie, enfin, nous avons examiné l'action de substances tout à fait différentes sur les cultures du bacille coli.

Certaines de ces substances avaient été déjà, à ce point de vue, l'objet de recherches. Celles-ci ayant donné des résultats contradictoires, nous les avons reprises.

D'autres n'avaient pas encore été expérimentées. Nous avons déterminé leur pouvoir antiseptique et infertilisant, et l'étude de quelques isosulfocyanates, notamment, nous a apporté des données intéressantes.

PREMIÈRE PARTIE

LE BACILLE COLI ET SON IDENTIFICATION
DANS DIVERS MILIEUX

LE BACILLE COLI

Examiné à l'état frais, le bacille coli type se présente au microscope sous la forme d'un bâtonnet de 2 à 6 μ , nettement mobile, dont la périphérie est pourvue de cils et les extrémités arrondies.

Il se colore par toutes les couleurs d'aniline et il ne prend pas le Gram.

Très résistant, il pousse dans tous les milieux usuels et à toutes les températures de culture.

Son pH optimum est 6,0-7,0 et ses pH limites 4,47-8.

Parmi ses nombreux caractères cultureux, nous ne citerons que les principaux, dont nous nous servons continuellement :

- il forme de l'indol sur les milieux peptonés;
- il fait fermenter la gélose lactosée tournesolée avec dégagement de gaz;
- il coagule le lait en faisant virer au bleu le lait tournesolé;
- il fait fermenter le bouillon glucosé avec dégagement de gaz;
- il ne liquéfie pas la gélatine.

Mais le bacille coli, que nous venons de définir par une forme et des caractères précis, ne constitue qu'un type bactériologique. Pratiquement, on ne trouve guère de bacille coli qui réponde exactement à cette définition.

Plus et mieux que d'autres bactéries, le bacille coli s'adapte aux milieux dans lesquels il vit. Or, ces milieux sont extrêmement variés et tout à fait différents. Aussi a-t-on pu trouver : des coli immobiles (Jules Renault, Gilbert et Lion); des

coli ayant perdu l'action sur le lactose; des coli faisant liquéfier la gélatine; des coli encapsulés; des coli ayant perdu le pouvoir indologène. A ce sujet, nous avons personnellement constaté que le bacille coli est d'autant moins indologène qu'il a davantage séjourné dans une eau pauvre en matières organiques, et il nous est arrivé quelquefois d'identifier, dans les eaux potables, un bacille coli qui ne nous donnait aucune réaction de l'indol en milieu peptoné, ni par le réactif nitrite de soude-acide chlorhydrique, ni par le réactif d'Ehrlich (paradiméthylamidobenzaldéhyde).

Le bacille coli n'est donc pas un germe nettement et clairement défini par une forme et des caractères fixes et immuables. Il existe de nombreuses variétés adaptives, qui se distinguent le plus souvent par leur mobilité et leurs propriétés fermentatives.

Il arrive même que des bacilles coli d'origine identique n'ont pas les mêmes propriétés. C'est ainsi qu'au cours de ces dix dernières années, nous avons, par trois fois, trouvé dans des urines humaines prélevées aseptiquement et par catéthérisme un bacille coli ne donnant pas en milieu peptoné la réaction fondamentale de l'indol. Ici, le bacille coli est pourtant directement d'origine fécale. C'est dire que si le bacille coli présente des variétés très nombreuses, quelques-unes d'entre elles sont imprévues et difficilement explicables.

Le bacille coli a une vitalité extraordinaire, et il résiste dans la nature à toutes les intempéries. Nous le trouvons dans l'air, dans l'eau, dans le sol, dans nos aliments, notamment dans les légumes crus et dans le lait.

Les légumes crus sont, le plus souvent, des véhicules de bacille coli. Nous avons pu constater — ceci dit simplement à titre d'exemple — un nombre considérable de bacilles coli sur quelques feuilles de persil (*Petroselinum sativum*) pris au marché.

Le lait de vache mérite une mention particulière, étant donnée l'énorme quantité qui est consommée journellement.

Au cours de ces douze dernières années, nous n'avons

jamais rencontré un lait commercial qui, ensemençé, ne donne pas une culture de bacille coli. Vu le nombre considérable de nos expériences faites sur des laits de provenances très différentes, dans des temps très variables après que le lait fut recueilli, expériences faites dans les départements de la Gironde et de la Nièvre, nous restons convaincu que l'on ne saurait trouver dans le commerce un lait qui ne contienne pas de bacille coli, et cela quels que soient les soins de propreté que l'on ait pris, tant pour traire les vaches que pour la conservation et la distribution du lait.

Sans doute, aurait-on des chances sérieuses d'obtenir un lait sans bacille coli, mais aux conditions suivantes :

- 1° qu'avant de traire la vache, son pis, et plus particulièrement les trayons, soient l'objet d'une toilette chirurgicale;
- 2° que les mains de « l'opérateur » soient parfaitement aseptiques;
- 3° que le lait tombe dans un récipient stérile, qu'on bouchera dès le lait recueilli;
- 4° que, pendant qu'elle est traitée, la vache soit placée ailleurs que dans une étable, et autant que possible dans un local propre et fermé aux vents;
- 5° que l'examen bactériologique du lait soit fait dès que le récipient est, pour la première fois, ouvert.

On voit que ces conditions sont commercialement irréalisables, et, seul, peut consommer du lait sans bacille coli celui qui le boit immédiatement après l'avoir recueilli, et sous réserve d'avoir pris des précautions d'asepsie.

En fait, tous les laits pris chez les marchands contiennent du bacille coli (1). L'été, la teneur du lait en bacille coli est

(1) Il y a lieu toutefois de noter l'effort réalisé par la Ville de Bordeaux pour fournir un lait pur destiné à l'alimentation des nourrissons :

Vaches sélectionnées et surveillées. Traite mécanique à l'aide d'instruments stériles et à l'abri de l'air extérieur. Lait, dès la récolte finie, réfrigéré, puis mis en carafes au moyen de tireuses spéciales. Le lait se trouve embouteillé moins de 10 minutes après avoir été traité. Les flacons, en alu-

souvent considérable. Aux mois de juillet et août, il est fréquent que, ensemencant une seule goutte de lait dans un ballon d'eau peptonée, on obtienne, 24 heures plus tard, une culture de bacille coli, ce qui correspond à un nombre de bacilles coli de l'ordre de 20.000 par litre de lait. A ces mêmes époques, il arrive que certains laits sont des bouillons de culture pure de bacille coli. L'hiver, le lait est, en général, beaucoup moins riche en bacille coli.

Mais si le bacille coli se trouve toujours dans les laits qui s'offrent à la consommation, peut-on s'en débarrasser facilement ? Est-ce que l'ébullition d'un lait suffit à tuer le bacille coli qui y est contenu ? Est-il nécessaire de se servir de l'autoclave pour stériliser le lait ? Et combien de temps faut-il ? Questions à examiner, qui nous donneront une mesure de la résistance du bacille coli.

Expériences.

Prenons un lait dont l'analyse nous montrera qu'il contient 20.000 bacilles coli par litre et soumettons-le à différentes épreuves :

Tout d'abord, il y a lieu de faire une distinction entre notre lait écrémé et notre lait entier (non écrémé).

1° *Lait écrémé.* — Nous écrémons une partie de notre lait par une centrifugation de 15 minutes.

a) Nous faisons bouillir une part de ce lait écrémé pendant 20 minutes dans une capsule munie d'un couvercle.

Après refroidissement, un prélèvement de 5 cc. est commencé en eau peptonée.

minium embouti, dans lesquels le lait est distribué, sont stérilisés à l'autoclave avant leur remplissage, fermés d'une façon étanche par une capsule métallique stérile, placés dans un camion isotherme pour le transport à Bordeaux, et là, répartis dans des dépôts munis de glacières.

Le lait ainsi délivré au consommateur contient des germes relativement peu nombreux, et ne présente jamais de pullulation microbienne.

On n'obtient aucune culture, même après 4 et 6 jours d'étuve.

b) Une autre part de ce lait écrémé est portée à l'autoclave à une température de 110°-115° pendant 15 minutes.

Après refroidissement, un prélèvement de 5 cc. estensemencé en eau peptonée.

Aucune culture ne se développe, après 2, 4, et 6 jours d'étuve.

c) Une troisième part de ce lait écrémé est portée à l'ébullition, pendant 10 minutes, dans une capsule munie d'un couvercle.

Après refroidissement, un prélèvement de 5 cc. estensemencé en eau peptonée.

Ce bouillon a donné une faible culture de bacilles, longs, légèrement mobiles, prenant le Gram, ne donnant pas la réaction de l'indol, type *B. subtilis*.

Absence de bacille coli.

d) Une quatrième part de ce lait écrémé est portée à l'autoclave à une température de 110°-115° pendant 10 minutes. Après refroidissement, l'examen bactériologique ne décèle pas de micro-organismes.

2° *Lait entier (non écrémé)*. — C'est le lait tel que nous l'avons acheté.

a) Une part de ce lait est portée à l'ébullition, dans une capsule munie d'un couvercle, pendant une durée de 15 minutes.

Après refroidissement, un prélèvement de 5 cc. estensemencé en eau peptonée.

Le bouillon donne, après 24 heures d'étuve, une très nette réaction de l'indol, avec odeur fécaloïde.

Le bacille coli est identifié après repiquages sur les milieux à réactions biochimiques classiques.

b) Une autre part est mise à bouillir, dans les mêmes conditions, pendant 1/2 heure.

Après refroidissement, un prélèvement de 5 cc. estensemencé aseptiquement en eau peptonée.

Le lendemain, nous trouvons une culture qui donne une légère, mais nette réaction de l'indol.

Le bacille coli est identifié après repiquages sur les milieux à réactions biochimiques.

c) Une troisième part, dans un ballon, est portée à l'autoclave, pendant 15 minutes, à 110°-115° (à 1/2 kg. de pression).

Après refroidissement, un prélèvement de 5 cc. estensemencé en eau peptonée.

Au bout de 24 heures, le bouillon a cultivé et donne une légère, mais nette réaction de l'indol.

La présence du bacille coli est identifiée après repiquages sur les milieux classiques.

d) Une quatrième part est portée à l'autoclave, pendant 30 minutes, à 110°-115° (1/2 kg. de pression).

Après refroidissement, un prélèvement de 5 cc. estensemencé en eau peptonée.

Au bout de 2, 4 et 6 jours, aucune culture ne s'est développée.

CONCLUSION :

Etant donné que le lait de vache entre pour une large part dans l'alimentation des tout petits, des enfants, des vieillards, des malades, il importe, au point de vue hygiène, d'apporter quelques précisions sur la présence du bacille coli dans les laits commerciaux et sur la manière de le détruire.

Nous dirons donc :

1° Le lait de vache, tel qu'on le trouve dans le commerce, contient du bacille coli.

2° *Lait écrémé :*

a) Un lait écrémé porté à l'ébullition pendant un temps égal ou supérieur à 10 minutes ne contient pas de bacille coli;

b) Un lait écrémé porté à *l'autoclave* pendant un temps égal ou supérieur à 10 minutes à 110°-115° ne contient pas de bacille coli.

3° *Lait entier* :

a) Un lait entier porté à *l'ébullition* pendant un temps inférieur ou égal à 30 minutes contient ou peut encore contenir du bacille coli (1);

b) Un lait entier porté à *l'autoclave* pendant un temps égal ou supérieur à 30 minutes ne contient plus de bacille coli.

TABLEAU I

Tableau schématique résumant nos expériences sur le lait.

Les laits commerciaux contiennent tous du bacille coli.

Expériences faites sur un de ces laits contenant 20.000 B. coli au litre.

TRAITEMENT DU LAIT	LAIT ÉCRÉMÉ	LAIT ENTIER
Ebullition 10'	—	+
Ebullition 15'	—	+
Ebullition 30'	—	+
Autoclave 10' (110°-115°)	—	+
Autoclave 15' (110°-115°)	—	+
Autoclave 30' (110°-115°)	—	—
Le signe + signifie présence de bacille coli. Le signe — signifie absence de bacille coli.		

Nous absorbons donc continuellement, d'une façon ou d'une autre, du bacille coli, et il n'y a rien là que de très normal, puisque nous savons que, si l'enfant vient au monde sans bacille coli dans son contenu intestinal, on en trouve abondamment 10 ou 12 heures après sa naissance. Ce fut, d'ailleurs, dans les selles d'un nouveau-né qu'Escherich, en

(1) Il faut remarquer que le bacille coli que l'on retrouve dans un lait entier qui a subi l'ébullition est un bacille qui a été profondément modifié et qui s'éloigne beaucoup du bacille coli type. Il a notamment perdu son pouvoir fermentescible vis-à-vis des sucres. Il se présente même parfois sous forme de coccobacille et n'a plus de mobilité.

1884, découvrit le bacille coli. On ne devait pas tarder à constater qu'il constitue le saprophyte constant de l'intestin chez l'homme et chez un grand nombre d'animaux.

Avant de clore ces généralités sur le bacille coli, ajoutons que nous avons remarqué que certains organismes vivants le détruisent : nous voulons parler des protozoaires, et plus particulièrement des infusoires.

Dans les diverses recherches que nous avons faites, sur des eaux très différentes, au cours de ces dernières années, nous avons été frappé par un fait : à plusieurs reprises, l'analyse bactériologique n'a pas décelé la présence de bacille coli dans des eaux croupies.

Nous avons donc fait l'expérience suivante :

EXPÉRIENCE. — Nous mettons dans un bac de l'eau de la ville d'Arcachon et des plantes diverses.

Un mois après, nous prélevons 100 cc. de cette eau, que nous plaçons dans un ballon. L'examen microscopique de cette eau nous montre des algues, des flagellés et des ciliés.

Nous ajoutons à l'eau de ce ballon 3 cc. d'émulsion de bacille coli dans l'eau distillée.

Dans un ballon témoin, contenant 100 cc. d'eau de la Ville (eau non stérilisée), nous ajoutons aussi 3 cc. d'émulsion de bacille coli dans l'eau distillée.

Ces deux ballons, l'un près de l'autre, sont abandonnés tels quels à la lumière et à la température du laboratoire, les cois recouverts seulement d'un capuchon de papier.

Au bout de 25 jours, et après agitation des deux ballons, nous prélevons dans chacun d'eux 5 cc. de liquide, que nous ensemençons en eau peptonée, eau peptonée phéniquée et sur notre milieu solide.

Les résultats sont nets :

1° Absence de bacille coli dans l'eau du premier ballon (l'eau peptonée, notamment, est restée claire et limpide après 2 ou 3 jours d'étuve, malgré les quelques éléments en suspension contenus dans l'eauensemencée);

2° Présence de bacille coli dans l'eau du ballon témoin, bacille qui donne des cultures abondantes.

CONCLUSION :

Il y a eu destruction du bacille coli dans l'eau du premier ballon.

Or, l'examen microscopique de cette eau montrant encore des flagellés très mobiles, nous croyons pouvoir conclure que ce sont ici les protozaires qui détruisent le bacille coli.

RECHERCHE ET IDENTIFICATION DU BACILLE COLI

En France, pour cultiver, identifier et numérer le bacille coli, on se sert généralement de la méthode de Vincent.

La culture est basée sur la propriété du bacille coli de vivre dans une eau peptonée légèrement phéniquée et à la température de 42°, l'acide phénique et la température de 42° étant des conditions dysgénésiques pour de nombreux germes banaux.

L'identification est simple : examen microscopique, Gram, réaction de l'indol, fermentation de la gélose lactosée tournesolée et du bouillon glucosé, coagulation du lait, etc., tous procédés classiques sur lesquels nous n'avons pas à nous étendre.

La numération se base sur cette hypothèse, vérifiée d'ailleurs expérimentalement dans l'immense majorité des cas, qu'une colonie est produite par un seul germe.

En somme, dans son principe, la méthode de Vincent consiste à faire l'ensemencement du bacille coli dans un milieu sélectif, où il proliférera mieux et plus vite que les autres germes. De cette culture primaire, on fait un prélèvement qu'on ensemence sur des milieux solides, sur lesquels il sera facile d'isoler le bacille.

C'est ainsi que, dans la plupart des laboratoires français, et notamment dans les laboratoires municipaux, on procède à la recherche du bacille coli dans les eaux.

Avec d'autres bactériologistes, nous avons pensé que cette méthode, si elle est commode et rapide, n'est pas à l'abri de toute critique :

D'abord, comme dans tous les milieux liquides, il y a lieu de tenir compte de la concurrence vitale, et il faut se méfier de certains bacilles qui, poussant plus mal et moins vite que d'autres, sont étouffés par ces derniers, plus prolifiques, de sorte qu'on ne peut plus les isoler du liquide de culture.

Ensuite, la température de culture (42°) nous paraît élevée, et nous craignons une action inhibitrice, si faible soit-elle, s'apparentant à l'action des antiseptiques.

Enfin et surtout, l'acide phénique a un pouvoir inhibiteur incontestable. C'est ainsi que nous montrons (p. 60) qu'un gramme d'acide phénique ajouté à 1.000 grammes de certains milieux liquides empêche toute culture.

Il n'est donc pas impossible que dans les milieux phéniqués le bacille coli soit, au moins dans certains cas, bactériologiquement en sommeil et inerte, et que, pour nous révéler son existence, il ait besoin d'être transposé dans un milieu plus favorable, par exemple dans l'intestin, où il se réveillera et se retrouvera avec toutes ses propriétés.

Ainsi peut-il arriver de conclure à l'absence du bacille coli dans une eau, alors que cette eau, en réalité, en contient.

MM. Diénert et Etrillart, exposant les causes d'erreur de la méthode de Vincent, vont même jusqu'à écrire qu'avec cette méthode ils ont « maintes fois obtenu des résultats négatifs pour le bacille coli avec des eaux manifestement contaminées ».

Pour isoler le bacille coli, nous avons donc cherché des milieux qui ne présentent pas les inconvénients cités plus haut.

Les milieux que nous avons réalisés, que ce soit en vue de l'hémoculture ou pour la recherche du bacille coli dans les eaux, procèdent du même esprit, s'inspirent des mêmes données, et sont tellement voisins qu'ils sont plutôt des aspects différents d'un même milieu que des milieux différents, ou,

mieux encore, ne constituent guère qu'un seul et même milieu adapté à des buts différents.

Convaincu, en effet, que la recherche et la numération du bacille coli en milieu liquide présentent certains aléas qu'elles ne connaissent pas en milieu solide, car là — et là seulement — les divers germesensemencés sont isolés et peuvent pousser rapidement à l'abri de toute concurrence vitale; convaincu des avantages que l'on peut retirer de la culture du bacille coli en utilisant les milieux solides, nous avons pensé à préparer, en vue des examens bactériologiques d'eau, par exemple, un support fait de gélose et de gélatine et en proportion telle que ce mélange soit *liquide* à la température de 42° et *solide* à une température de 30°.

Ainsi concevions-nous la possibilité d'ensemencer directement l'eau à examiner sur un milieu *momentanément* liquide, qui, dès l'ensemencement fait, se solidifiant très rapidement, permettrait une culture en milieu solide.

Nous avons donc déjà fait connaître un procédé qui offre les avantages suivants :

1° Ensemencement direct de l'eau à examiner.

2° Culture sur milieu solide et qui satisfasse à deux conditions :

- a) que tous les germesensemencés soient isolés sur le milieu et puissent se développer isolément (d'où pas de concurrence vitale);
- b) que les colonies de bacille coli soient faciles à différencier des autres espèces.

3° Pas de substance antiseptique dont on peut craindre l'action inhibitrice.

4° Une culture à basse température.

Ci-dessous exposé, aussi succinctement que possible, notre procédé personnel de recherche, d'identification et de numération du bacille coli dans les eaux, et plus généralement d'analyse bactériologique des eaux.

Formule de notre milieu et technique personnelle :

Peptone	30 g.
Lactose	15 g.
Gélose	15 g.
Gélatine	60 g.
Sel marin	5 g.
Eau de source.....	900 g.

Après dissolution et neutralisation, clarifier au blanc d'œuf, filtrer, ramener à 900 cc.

Ajouter solution filtrée contenant :

Rouge Congo	2 g.
Lessive de soude, dite des savonniers.....	1/2 cc.
Eau distillée	100 cc.

Mélanger. Répartir en plaques de Roux à raison de 15 cc. par plaque. Stériliser à 105° pendant une demi-heure.

Au moment du besoin, faire liquéfier au bain-marie à 42° environ. Ensemencer aseptiquement avec une pipette stérile l'eau à examiner, 1 cc. par exemple. Mélanger. Laisser solidifier *horizontalement*. Mettre à l'étuve à une température de 25-30°. Au bout de 24 heures, de 48 heures, ou, si l'on veut, de 60 heures, voir les colonies.

Les colonies de bacilles coli apparaissent très nettement sous forme de taches d'un beau bleu clair sur fond rouge groseille. Les colonies de bacille typhique se détachent, elles aussi, très nettement en rouge foncé, mais sont beaucoup plus petites que celles du bacille coli.

Se servir d'une loupe pour plus de sûreté.

NOTA. — Si l'on pense que l'eau à examiner doit être très pauvre en bacille coli, on ensemence 10 cc. sur 150 cc. de notre milieu stérilisé, *momentanément* liquéfié, et contenu dans un ballon. Après mélange, on coulera immédiatement en boîtes de Pétri préalablement stérilisées (en 10 boîtes, si l'on n'a à sa disposition que des petites boîtes de 9 centimètres de diamètre).

On peut aussi centrifuger longuement 50 cc. d'eau dans un tube centrifugeur effilé à sa partie inférieure, gradué, et

préalablement stérilisé muni d'une coiffe de papier-filtre. La centrifugation opérée, on soutirera au moyen d'un siphon stérile la partie supérieure de l'eau jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un volume de liquide compris entre 2 et 4 cc. Pour ensementer, on versera aseptiquement 15 à 20 cc. de notre milieu liquéfié dans le tube centrifugeur. On mélangera énergiquement par agitation, le tube étant bouché par une rondelle de caoutchouc stérile maintenue par le pouce, et l'on coulera le tout immédiatement en boîte de Pétri. (Centrifuger simultanément dans deux ou quatre tubes : ainsi la recherche portera-t-elle sur 100 ou 200 cc. de la même prise d'eau).

Si l'eau est très chargée de matières minérales, notamment d'aluminium et de fer à l'état d'oxydes ou d'hydrates, avant de centrifuger, on filtrera sur filtre-papier stérilisé pour se débarrasser de la plus grande partie de ces substances en suspension, cette simple filtration ne pouvant modifier la flore bactérienne.

Notre milieu et notre technique, tels que nous venons de les présenter, appellent quelques commentaires :

1° Dans notre milieu, nous mettons à profit la propriété du bacille coli de faire fermenter les sucres. Il décompose ici le lactose en anhydride carbonique et hydrogène avec formation d'acides lactique, acétique et formique. Ces acides agissant sur le rouge Congo, très sensible, le font virer au bleu.

Le bacille typhique n'a pas d'action sur le lactose. Il devient rouge foncé en se chargeant de rouge Congo, qui est un colorant vital.

2° Nous avons fait sur notre milieu des expériences très nombreuses. Nous avons notamment cultivé sur ce milieu des eaux dans lesquelles nous venions d'ensemencer à la fois du bacille d'Eberth et du bacille coli. Nous avons toujours vu, au bout de 60 heures au plus, les colonies de bacilles coli en bleu clair et les colonies de bacilles typhiques en rouge foncé se détachant les unes et les autres très nettement à l'œil nu, pour peu qu'il soit exercé.

3° Signalons enfin, et cela est très important, que sur

notre milieu tous les germes de l'eau cultivent. Ainsi pouvons-nous faire directement et du même coup, non seulement la numération du bacille coli, mais la numération des autres colonies. Cette numération, suivant le procédé courant qu'on emploie sur culture sur gélatine, est d'une facilité extrême. Au bout de quelques jours, si les colonies sont peu nombreuses, on les compte une à une sur toute la plaque après avoir divisé la plaque en secteurs égaux par des traits au crayon gras. Si les colonies sont très nombreuses, on compte les germes de deux secteurs sensiblement aussi riches en bacilles. On fait la moyenne des deux numérations, on multiplie le chiffre par le nombre des secteurs, et l'on rapporte la numération au centimètre cube pris comme unité.

APPLICATIONS DE NOTRE PROCEDE

Notre procédé a été successivement employé à la recherche du bacille coli, concurremment avec la méthode de Vincent :

- 1° dans l'eau de mer;
- 2° dans les eaux potables;
- 3° dans les eaux minérales.

Eau de mer.

En 1931, sous la direction de M. le Professeur Mandoul, nous avons étudié la destinée du bacille coli en milieu marin, et nos travaux nous ont amené à poser les conclusions suivantes :

- a) Pour que l'on trouve du bacille coli en milieu marin, il est nécessaire qu'il soit apporté en abondance soit par des égouts, soit par des cours d'eau douce, soit par le voisinage d'agglomérations;
- b) Pour que la présence du bacille coli subsiste en milieu marin, ainsi qu'il est de fait près de certaines côtes habitées, il est indispensable que la contamination soit entretenue constamment par l'apport de nouveaux bacilles;
- c) Le bacille coli, non seulement ne cultive pas en milieu marin, mais il est détruit complètement au bout de quatre ou cinq jours au plus.

Eaux potables.

Depuis 4 ans, nous avons eu de fréquentes occasions de nous servir de notre méthode pour examiner bactériologiquement des eaux destinées à la consommation.

Nous avons toujours obtenu d'excellents résultats. A la vérité, la méthode de Vincent et notre méthode, employées

concurrentement, nous ont toujours donné des résultats identiques pour la seule recherche du bacille coli, et pour sa numération des résultats du même ordre.

Remarquons toutefois à ce sujet que certains expérimentateurs ont noté une différence.

Notre regretté confrère Duverger, qui a étudié simultanément sur la même eau les deux techniques, écrit :

« La technique de Vincent a été utilisée suivant les principes classiques : culture sur bouillon phéniqué, identification par examen microscopique, Gram, réaction de l'indol, gélose lactosée tournesolée, etc.

» Voici, ci-joints, les résultats schématiques des analyses effectuées du 19 au 26 août 1931 :

1° sur 50 cc. d'eauensemencée sur 50 cc. de bouillon phéniqué;

2° sur 50 cc. d'eau centrifugée et ramenée à 1 cc.ensemencé sur milieu Fleury.

TABLEAU II

Résultats comparatifs des analyses bactériologiques effectuées simultanément sur milieu Vincent et sur milieu Fleury.

(D'après DUVERGER.)

DATES	MILIEU VINCENT	MILIEU FLEURY
19 août 1931	Après 48 heures : bouillon phéniqué trouble. Pas d'indol — Cocci et diplocoques Pas de bacille coli	Après 5 jours : 1 colonie bleue — Présence de bacille coli
20 août 1931	d°	Pas de colonie bleue — absence de bacille coli
21 août 1931	d°	d°
22 août 1931	d°	d°
23 août 1931	d°	d°
24 août 1931	d°	d°
25 août 1931	d°	d°
26 août 1931	d°	d°

» On voit que, le 19 août, le milieu Fleury a seul été capable de détecter la présence du bacille coli : nous en concluons qu'à part les remarquables améliorations que sa technique nous propose, on doit voir dans le milieu Fleury un milieu d'élection, de choix, pour la culture du bacille coli, qui ne saurait mieux proliférer en aucun autre milieu. » (*Contribution à l'étude des eaux d'alimentation de la ville d'Arcahon*, p. 121-122.)

Mais, alors même que notre méthode ne serait ni plus sûre ni plus précise que celle de Vincent, elle nous semble cependant préférable, puisque, en plus du bacille coli et en même temps, elle permet de cultiver, de différencier et de numérer les divers germes d'une eau.

Eaux minérales.

Nous avons entrepris, en 1932, l'étude systématique des eaux minérales françaises au point de vue bactériologique et nous l'avons exposée, l'année suivante, dans un mémoire intitulé : « *Sur la recherche qualitative et quantitative du Bacterium coli dans les eaux minérales.* » (1).

Nous ne nous sommes pas rendu aux sources pour prélever les échantillons avec les précautions d'usage. Exerçant la profession de pharmacien, l'idée nous est naturellement venue d'examiner les eaux minérales telles qu'elles se trouvent dans le commerce de détail. Il est permis de penser, en effet, que l'eau minérale délivrée par le marchand peut être bactériologiquement différente de cette même eau puisée à la source. Les causes de pollution, si minimes qu'elles soient, ne sont pas à négliger : d'abord la bouteille et la mise en bouteille; ensuite le bouchage — très important — que ce soit un bouchon de liège ou une capsule qui obture la bouteille; l'influence de la lumière, de la chaleur, dans les dépôts ou boutiques où se trouvent ces bouteilles; la façon de les con-

(1) Communication à l'Académie de médecine, séance du 21 février 1933.

server (il n'est pas indifférent, pour la bonne conservation de certaines eaux minérales gazeuses, de garder les bouteilles debout ou couchées), tous ces facteurs peuvent avoir, à la longue, une action sur la qualité bactériologique de l'eau.

Ce sont donc les eaux minérales telles que le public les achète chez le commerçant que nous avons analysées,

Nous ne pouvons exposer ici le détail de notre travail, encore moins ses résultats.

Qu'il nous suffise d'en tirer les conclusions générales qu'il comporte :

a) Notre milieu et notre technique conviennent parfaitement à l'examen bactériologique des eaux minérales;

b) Leur emploi systématique nous permet d'affirmer l'absence complète de bacille coli et de germes putrides dans toutes les eaux minérales françaises que nous avons étudiées;

c) Ils nous permettent également de constater dans certaines de ces eaux, au moment où elles sont délivrées au public, la présence de germes provenant soit de la mise en bouteille, soit, plus vraisemblablement, de défauts dans la fermeture des bouteilles;

d) Il est désirable que toutes les précautions soient prises — dans le capsulage en particulier — pour conserver à ces eaux minérales les qualités de pureté bactériologique qu'elles présentent à l'émergence.

ENSEMENCEMENT EN STRIES

Le procédé que nous avons exposé plus haut peut parfaitement convenir à l'ensemencement en stries.

Pour cela, au lieu de se servir de plaques de Roux, il suffit tout simplement de répartir notre milieu en boîtes de Pétri, à raison de 15 cc. pour une boîte de Pétri de 9 centimètres de diamètre, et en ayant soin de garnir intérieurement le couvercle de la boîte d'une rondelle de papier-filtre.

Sur ce milieu, les colonies de bacilles coli apparaissent très nettement sous forme de taches d'un beau bleu clair, sur fond rouge groseille, soit au bout de 8, 10 ou 12 jours si le milieu est abandonné à la température ambiante, soit au bout de 24, 48 ou 60 heures s'il est placé à l'étuve à une température de 25 à 30°.

Applications.

Sous ce nouvel aspect, notre procédé ainsi adapté à l'ensemencement en stries nous a rendu de grands services, et nous en faisons des applications nombreuses :

1° URINES. — Nous ensemençons en stries le sédiment obtenu par centrifugation. Mise à l'étuve à 25-30°. Les colonies se montrent 48 heures après. Le bacille coli, notamment, apparaît sous forme de taches d'un beau bleu clair sur fond rouge groseille.

2° MATIÈRES FÉCALES. — Ici, notre méthode offre un intérêt plus grand : c'est que l'ensemencement permet de cultiver et de différencier du même coup le bacille coli et le bacille typhi-

que. Sur notre milieu, la différenciation se fait aisément, même dans les fèces, à condition d'ensemencer successivement, avec le même fil de platine porteur de matière fécale, trois ou quatre boîtes de Pétri, de façon à favoriser l'isolement des différentes colonies. A côté du bacille coli bleu clair, on verra les colonies de bacille typhique en rouge foncé, plus petites que les colonies de bacille coli. Or, au début d'une fièvre typhoïde, réelle ou supposée, soit qu'on recherche les bacilles coliformes par hémoculture, soit qu'on emploie la méthode du séro-diagnostic, il peut ne pas être sans intérêt, dans certains cas, de rechercher, en outre, le bacille d'Eberth dans les matières fécales.

3° CONTENU INTESTINAL DES ANIMAUX. — Nous nous sommes continuellement servi de notre procédé pour rechercher le bacille coli dans l'intestin de très nombreux animaux : animaux marins, d'eau douce, terrestres, etc.

Notre milieu et notre méthode semblent comporter une utilité particulière pour l'examen bactériologique des huîtres et des coquillages.

L'huître, en effet, a pour l'hygiéniste une valeur particulière. Le temps n'est pas si éloigné où l'on parlait encore de typhoïdes « ostréaires ». Actuellement, il semble bien établi :

- a) que la contamination par l'huître insalubre est un fait incontestable;
- b) que, dans cette contamination, l'huître ne joue que le rôle de simple véhicule.

L'huître est l'objet d'une réglementation sérieuse. Elle est notamment examinée à la production au point de vue bacille coli. Les recherches se faisaient toujours, jusqu'à ces derniers temps, par la méthode de Vincent. Cependant, au cours de l'année 1931, la Direction centrale de l'Office des Pêches portait officiellement la méthode de MM. Diénert et Etrillart à la connaissance de ses inspecteurs régionaux chargés de veiller sur la salubrité des huîtres et de surveiller bactériologiquement l'eau de mer dans laquelle elles vivent.

Or, notre méthode, modifiant et complétant celle de MM. Diénert et Etrillart, nous semble mieux adaptée au but qu'on se propose. Son avantage, ici, n'est pas tellement sa moindre difficulté de mise en œuvre, ni sa précision plus grande : c'est surtout, là encore, de pouvoir déceler simultanément le bacille coli et le bacille d'Eberth. C'est là une supériorité dont on peut tirer profit, non seulement pour les huîtres, mais pour les coquillages, car il est trop certain qu'il existe des typhoïdes dues à des infections coquillères, et principalement d'origine moulière. Souhaitons que la réglementation qui joue présentement pour les huîtres s'étende à tous les coquillages, et notamment aux moules.

CONCLUSION :

Ces diverses applications de notre procédé montrent :

- 1° qu'il a une valeur générale;
 - 2° que, vu l'intérêt qu'il peut y avoir à cultiver et à différencier, sur un même milieu, le bacille coli et le bacille typhique, il peut rendre d'utiles services.
-

UN NOUVEAU PROCEDE D'HEMOCULTURE

Pour le diagnostic bactériologique des septicémies les plus fréquentes, on a recours habituellement soit à l'hémoculture, soit au séro-diagnostic.

Or, le séro-diagnostic n'est pas toujours utilisable, et l'hémoculture, du fait des milieux jusqu'à présent employés, apporte des résultats incomplets, douteux ou erronés.

Nous avons donc pensé qu'il était utile de réaliser un milieu et de mettre en œuvre une méthode qui donnent à l'hémoculture une valeur diagnostique sûre, constante et générale.

C'est encore notre procédé, *mutatis mutandis*, qui va nous apporter la solution au problème que nous nous sommes posé.

I. — Formule de notre milieu.

Faire dissoudre à chaud :

Peptone pancréatique de viande.....	40 g.
Sel marin	5 g.
Gélose coupée	30 g.

dans :

Eau	900 cc.
-----------	---------

Neutraliser. Clarifier au blanc d'œuf. Filtrer. Ajouter la solution filtrée suivante :

Eau distillée	100 g.
Lactose	15 g.
Rouge Congo	2 g.
Lessive de soude pure (36°).....	0 cc. 50

Répartir en plaques de Roux de 1 litre de capacité, à raison de 20 cc. par plaque.

Stériliser à 103° pendant 30 minutes.

Laisser refroidir la plaque debout.

Ainsi obtenons-nous un milieu solide, rouge groseille, parfaitement homogène, prêt à être ensemencé selon la méthode suivante :

II. — Emploi de notre milieu.

Plonger le fond de la plaque de Roux (c'est-à-dire la partie de la plaque contenant le milieu solide) dans l'eau chaude.

Au bout de quelques instants, le milieu est complètement liquéfié. On retire la plaque de l'eau et on laisse un peu refroidir, de façon que le milieu reste liquide, tout en étant à une température aussi peu élevée que possible. Pratiquement, on laisse refroidir jusqu'à ce qu'on puisse prendre la plaque à pleine main et que la chaleur soit supportable : à ce moment-là, le milieu est à une température de 40°-44°.

Au moyen de la seringue, refouler alors dans la plaque de Roux 5 cc. environ de sang prélevé par ponction veineuse. Mêler au milieu *momentanément liquide*, en inclinant en tous sens la plaque, sans provoquer de bulles d'air.

Laisser refroidir et solidifier le milieu en abandonnant la plaque, à *plat*, sur une table ou sur un endroit plan.

Le milieu une fois complètement solidifié, nous obtenons une couche à peu près uniforme de 2 à 3 millimètres d'épaisseur.

Placer à l'étuve à 36°-37° en position horizontale.

Au bout de 24, de 36 ou de 48 heures de séjour à l'étuve, les colonies seront suffisamment développées.

Celles-ci se détachent nettement, la plaque posée sur fond noir, en gris bleu, rose, ou rouge, suivant l'espèce microbienne.

III. — Différenciation et identification des germes cultivés.

1° ASPECT DES PRINCIPALES COLONIES MICROBIENNES DANS NOTRE MILIEU SOLIDE.

a) *Bacille coli*. — Colonies *gris bleu*, s'étendant au fur et à mesure de leur développement. *Bords irréguliers*. Quelquefois, lorsque les colonies sont incluses dans le milieu, il se forme des bulles lenticulaires dues à la fermentation du lactose.

b) *Bacille typhique et para*. — Colonies *rouges*, qui, lorsqu'elles sont superficielles, s'étendent au fur et à mesure de leur développement. *Bords nets*.

c) *Staphylocoque, streptocoque, diplocoques et coccus divers*. — Colonies *blanchâtres* ou *rosées*, à bords plus blancs que le centre.

d) *B. subtilis*. — Colonies *roses* envahissant rapidement la surface du milieu. Bords irréguliers et légèrement bleuâtres.

e) *Bacille diphtérique*. — Colonies petites, punctiformes, presque translucides, de couleur rougeâtre.

REMARQUE. — Les colonies poussant à l'intérieur du milieu sont toutes de couleur uniforme, couleur rose, sauf les colonies du bacille coli, qui sont bleu pâle.

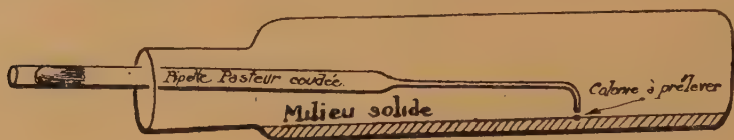
2° MOYEN D'IDENTIFIER LES GERMES CULTIVÉS.

La couleur et l'aspect des colonies donnent déjà une idée grossière de la nature de l'infection. Il est indispensable de procéder maintenant à l'identification des germes.

Prélever les colonies cultivées de la façon suivante :

Prendre une pipette Pasteur, à effilure longue, d'un diamètre de 2 millimètres environ, stérile. La couder à angle droit vers son extrémité. La couper avec une petite pince flambée à 1 centimètre de la coudure et l'introduire aseptiquement dans la plaque de Roux.

Piquer avec l'extrémité crochue la colonie à prélever, de façon que cette dernière entre dans la pipette comme dans un tube, puis retirer le tout (Voir croquis ci-dessous) :



Plaque de Roux de 1 litre de capacité.

Manière de prélever une colonie microbienne sur notre milieu solide.

Déposer, en soufflant légèrement dans la pipette, la colonie prélevée et les traces de milieu adhérent sur une lame flambée et encore un peu tiède.

Diluer avec une goutte d'eau stérile, recouvrir avec une lamelle en vue d'étudier la mobilité.

Après ce premier examen, enlever la lamelle, laisser sécher la préparation, colorer au Gram.

En général, la couleur et l'aspect de la colonie dans le milieu, puis son examen microscopique (mobilité et coloration au Gram), constituent des données suffisantes pour déterminer le germe.

Mais, si l'on désire étudier les caractères cultureux, rien de plus facile : prélever avec le fil de platine sur la lame où la colonie a été diluée une trace de la suspension microbienne pour ensemer sur gélose simple et eau peptonée. (Il s'agit ici de l'ensemencement d'une espèce unique : dans ce cas particulier, il n'y a évidemment pas de concurrence vitale à craindre en eau peptonée.) Ces cultures serviront à approfondir ultérieurement et autant qu'il le faudra les caractères différentiels du germe ainsi cultivé.

OBSERVATION. — Il arrive parfois, au sortir de l'étuve, que la plaque de Roux présente sur sa face interne — celle qui est opposée au milieu — des gouttelettes d'eau de condensation, gênant la visibilité des colonies. On peut se débarrasser de ces gouttes d'eau en passant sur cette surface intérieure de

la plaque de Roux, avec les précautions aseptiques d'usage, un écouvillon portant, soit du coton hydrophile, soit un bouchon de papier-filtre, le tout étant stérile.

IV. — Conservation du milieu.

Le milieu gélosé étant en petite quantité dans la plaque de Roux de 1 litre se dessèche assez rapidement s'il est fermé seulement par un bouchon de coton.

Pour éviter une trop grande dessiccation, on peut procéder de deux façons :

1° Faire une coiffe avec du papier gommé que l'on collera soigneusement sur le goulot de la plaque de Roux, puis badigeonner le tout avec un pinceau imbibé de paraffine fondue;

2° Répartir le milieu, lors de sa préparation, dans de gros tubes à essai (20 cc. par tube). Stériliser. Puis couler de la paraffine fondue sur le bouchon de coton enfoncé au ras du tube.

Au moment de l'emploi, enlever la paraffine avec un couteau, retirer légèrement la bourre de coton avec une pince, faire liquéfier au bain-marie et couler aseptiquement dans une boîte de Roux de 1 litre stérile.

V. — Avantages de notre procédé sur les procédés jusqu'à présent employés.

Pour simplifier, nous examinerons très succinctement notre procédé par comparaison avec trois procédés-types :

1° Avec le séro-diagnostic;

2° Avec l'hémoculture en tubes de bile;

3° Avec l'hémoculture en eau peptonée.

1° Notre procédé présente sur le séro-diagnostic deux avantages :

a) Il est utilisable dès le début de l'infection;

b) Il n'y a pas à tenir compte chez le sujet d'une vaccination typhique antérieure qui, souvent, rend les conclusions du séro-diagnostic inexactes ou aléatoires.

2° L'hémoculture en tubes de bile donne des résultats excellents pour les bacilles de la série typhique et para, encore que, pour conclure, il faille se méfier, dans certains cas, des saprophytes de la peau. Mais ces résultats ne sont jamais plus sûrs ni plus constants que ceux qu'apporte la culture sur notre milieu solide. Et ce dernier offre un avantage considérable sur la bile : si celle-ci, en effet, est un milieu de choix pour l'isolement des bacilles typhiques et paratyphiques, elle ne saurait constituer un milieu de culture pour les cocci divers ou les bacilles pathogènes autres que les bacilles coliformes. Tel n'est pas le cas pour notre milieu solide.

L'hémoculture en tubes de bile a une valeur particulière.

L'hémoculture sur notre milieu solide a une valeur générale.

3° Quand, dans un ballon renfermant de l'eau peptonée (et cela est aussi vrai du bouillon de bœuf), on refoule le sang contenu dans la seringue, on peut ensemer des microbes très différents. Nous aurons dès lors des espèces qui cultivent mieux et plus vite que d'autres, de sorte qu'au bout de 48 heures de séjour à l'étuve certains germes auront été annihilés par d'autres et ne pourront, par conséquent, être isolés du liquide de culture. C'est cette concurrence vitale qui explique que, dans la pratique courante, il arrive, par exemple, d'obtenir des résultats négatifs pour le bacille d'Eberth avec des infections présentant tous les signes et caractéristiques cliniques de la fièvre typhoïde.

Le fait suivant, évidemment exceptionnel, mais que nous avons pu constater, est à cet égard typique :

Chez un malade, nous avonsensemencé le sang de la même ponction veineuse, faite par le médecin traitant, à raison de 5 cc. dans notre milieu solide, et 5 cc. en eau peptonée, et nous avons placé les deux milieux à l'étuve à 37°.

Au bout de 48 heures de séjour, nous avons constaté :

- a) Qu'un voile épais s'était développé à la surface de la culture en eau peptonée;

- b) Que les colonies, les unes rouges et rondes, les autres, en surface, roses et confluentes, s'étaient développées sur notre milieu solide.

L'examen microscopique nous a montré :

- a) Sur eau peptonée : Prélèvement dans la profondeur du bouillon : bacilles longs, mobiles, prenant nettement le Gram.

- b) Sur notre milieu solide :

α. Prélèvement d'une colonie nettement ronde et rouge : bacilles très mobiles ne prenant pas le Gram;

β. Prélèvement d'une colonie de surface, rose : bacilles longs, mobiles, prenant nettement le Gram.

Enfin, la culture en eau peptonée, d'une part, et, d'autre part, les colonies sur notre milieu solide ont été repiquées sur gélose simple et sur gélose au plomb.

Pas de doute possible : la culture sur eau peptonée nous a donné uniquement du *B. subtilis*, la culture sur notre milieu solide nous a donné du bacille typhique et du *B. subtilis*.

Ajoutons, pour plus de précision, qu'au bout de 3 jours notre milieu solide a eu sa surface complètement envahie par le *B. subtilis* (colonies roses à bords bleutés) qui a poussé abondamment grâce à l'auto-ensemencement par l'eau de condensation du milieu.

Le cas que nous venons de rapporter montre clairement et le danger de l'hémoculture en eau peptonée et l'avantage de notre procédé.

Sur notre milieu solide tous les germes ensemencés sont isolés, ils poussent séparément, à l'abri de toute concurrence vitale, et souvent en colonies de forme et de couleur caractéristiques. Certes, notre milieu, du fait de sa composition et notamment de la forte teneur en peptone, qui le rend très nutritif, est un milieu de choix pour la culture des principales bactéries pathogènes, mais c'est surtout l'absence de concurrence vitale qui donne aux résultats la sûreté, la fidélité et la généralité.

REMARQUE IMPORTANTE.

Notre milieu solide réparti, à raison de 20 cc. par boîte, dans trois boîtes de Pétri de 9 cc. 5 de diamètre (dont le couvercle sera garni d'une rondelle de papier-filtre), est particulièrement recommandable pour la recherche des bactéries pathogènes dans les matières fécales, à condition d'ensemencer en stries et successivement les trois boîtes de Pétri, avec la même spatule de platine non rechargée.

CONCLUSION.

Notre méthode, simple et précise, permet de cultiver, de différencier et d'identifier les divers germes du sang ensemencés directement sur un milieu solide approprié.

Par les résultats sûrs, constants et généraux qu'il apporte, notre procédé d'hémoculture s'avère comme préférable aux différents procédés jusqu'à présent employés en vue du diagnostic bactériologique des maladies infectieuses.

DEUXIÈME PARTIE

LE BACILLE COLI ET LE CONTENU INTESTINAL
DES ANIMAUX

LE BACILLE COLI ET LE CONTENU INTESTINAL DES ANIMAUX

Il est classique d'admettre que le bacille coli existe dans le contenu intestinal de tous les animaux. Sur ce point, les auteurs sont, à notre connaissance, unanimes, et nous n'aurions que l'embarras du choix pour faire un grand nombre de citations. Nous ne prendrons, au hasard, qu'un seul traité, un manuel de bactériologie tout récent, à l'usage des étudiants et des praticiens ⁽¹⁾, et nous lirons les phrases suivantes : « Le coli bacille est un saprophyte constant du tube digestif qui se multiplie surtout et est à foison dans l'intestin, tout particulièrement le côlon, chez l'homme et *tous les animaux, même les invertébrés*, qui le puisent dans la terre. » Et plus loin : « C'est un saprophyte qui envahit le tube digestif dès les premières heures de la naissance et mène, non pas une existence précaire mais florissante dans les matières fécales, où il se multiplie et se trouve par milliards chez l'homme et *tous les animaux*. De là, il passe dans la bouche, le vagin, la peau, où il existe seulement à l'état d'unités. Rejeté dans les matières fécales dans la terre, il est *universellement* répandu dans l'air, l'eau, le sol, les produits alimentaires, le lait en particulier. » Et, enfin, cette dernière phrase, très claire, qui résume bien l'opinion classique qu'on retrouve exprimée partout, sous diverses formes : « Le coli bacille existe normalement dans les matières fécales de *tous les êtres aquatiques et terrestres*. »

(1) Philibert, *Manuel de bactériologie médicale*.

Est-ce bien exact? Et n'y aurait-il pas lieu de procéder à de nombreuses vérifications?

C'est à quoi nous allons nous employer.

*
* *

En vue de la facilité de notre étude et pour lui apporter plus de clarté, nous diviserons les animaux en six catégories :

- 1° Les animaux marins;
- 2° Les animaux à la fois marins et d'eau douce;
- 3° Les animaux d'eau douce;
- 4° Les animaux à la fois d'eau douce et terrestres;
- 5° Les animaux terrestres;
- 6° Les animaux aériens.

Nous examinerons des animaux, peu ou prou, dans chaque catégorie, au hasard des facilités, mais en nous efforçant quand même d'étudier des animaux types, ou qui nous semblent plus intéressants que les autres par leur mode d'existence, en nous plaçant toujours au seul point de vue de l'absence possible du bacille coli dans leur contenu intestinal.

I

ANIMAUX MARINS

Nous verrons successivement :

- des mammifères marins;
- des poissons marins;
- des céphalopodes;
- des lamellibranches marins;
- des crustacés marins;
- des vers marins.

MAMMIFERES MARINS

Recherche du bacille coli dans l'intestin des marsouins.

Nous exposerons en détail les recherches que nous avons faites sur le premier marsouin que nous avons eu à notre disposition, nous contentant, pour les huit autres, de donner un compte rendu global de nos expériences.

EXAMEN DU PREMIER MARSOUIN

Le 8 janvier 1932, apprenant qu'un chalutier d'une pêcherie d'Arcachon venait de décharger, outre sa cargaison de poissons, un marsouin, nous nous rendîmes immédiatement à la pêcherie avec notre matériel, qui comprenait :

- 2 ballons contenant chacun 100 cc. d'eau peptonée;
- 2 ballons contenant chacun 100 cc. d'eau peptonée phéniquée;
- 2 boîtes de Pétri contenant chacune 15 cc. de notre milieu solide;

- 1 lampe à alcool;
- 1 aiguille lancéolée;
- 1 aiguille pointue;
- 10 pipettes parfaitement stériles, enveloppées chacune dans du papier filtre.

Nous trouvâmes sur les lieux un marsouin de 2 m. 40 de long et de 1 m. 25 de tour.

Deux hommes maintinrent le marsouin couché sur le dos. Un opérateur bénévole, armé d'un coutelas, lui ouvrit la face ventrale, fort adroitement, en partant de la tête. Aucun viscère ne fut touché. La masse intestinale, notamment, se présenta à nous absolument indemne.

L'abdomen largement ouvert, il nous était facile de faire nos prélèvements.

A. — Technique de nos prélèvements.

1° Sur l'intestin, à la place que nous choisissons, nous appliquions — juste le temps d'y toucher — une face de la lance, rougie à la flamme, de l'aiguille lancéolée.

2° Avec une aiguille pointue, stérilisée par son passage à la flamme, nous percions un trou dans cette infime portion du tube intestinal, déjà stérilisé par l'application du fer rouge.

3° Ce trou nous permettait d'enfoncer d'un seul coup et assez loin une pipette stérile.

Par aspiration, il ne nous restait plus qu'à remplir de fiente une partie de notre pipette.

A noter, à l'aspiration, un dégagement d'hydrogène sulfuré.

A noter encore que le volume de la masse intestinale nous mettant tout à fait à notre aise pour choisir les endroits de nos prélèvements, nous avons fait six prises de fiente dans le côlon, à des endroits éloignés les uns des autres. Chaque prise étaitensemencée immédiatement et directement.

1^{re} prise : sur eau peptonée, ballon A.

2^e prise : sur eau peptonée, ballon B.

3° prise : sur eau peptonée phéniquée, ballon C.

4° prise : sur eau peptonée phéniquée, ballon D.

5° prise : sur notre milieu solide, boîte E.

6° prise : sur notre milieu solide, boîte F.

De retour à notre laboratoire, nous placions les ensemencements sur eau peptonée à l'étuve à 36°, les ensemencements sur eau peptonée phéniquée à l'étuve à 42°, et nous laissons à la température ambiante les ensemencements sur notre milieu solide :

B. — Expériences.

Voyons ce qui s'est passé dans chacune des six expériences que nous avons faites :

EXPÉRIENCE 1 : *Ballon A.*

1° Après 24 heures d'étuve à 36° :

Aspect du bouillon : noirâtre, dégageant une odeur de putréfaction.

Réaction de l'indol :

a) Avec nitrite de soude + ClH : très faiblement positive;

b) Avec réactif d'Ehrlich : nulle.

2° Après 48 heures d'étuve à 36° :

Aspect du bouillon : inchangé.

Réaction de l'indol :

a) Avec nitrite de soude + ClH : nettement positive;

b) Avec réactif d'Ehrlich : nulle.

3° Examen microscopique de la culture après 48 heures d'étuve :

a) Entre lame et lamelle sans coloration : Rares bacilles épais et longs, quelquefois réunis en chaînettes (streptobacilles), dont quelques-uns sont très légèrement mobiles. Quelques bacilles présentent une spore terminale et sont d'une plus grande mobilité;

b) Après coloration à la fuchsine de Ziehl : Chapelets de gros bacilles faisant penser à des filaments de champignons;

c) Après coloration au Gram : Tous les micro-organismes prennent le Gram. En particulier, les streptobacilles sont très fortement colorés.

4° Ensemencements :

a) Sur gélose simple : pas de culture après 48 heures d'étuve;

b) Sur gélose lactosée tournesolée : pas de culture après 48 heures d'étuve;

c) Sur lait tournesolé : pas de culture après 72 heures d'étuve;

d) Sur bouillon glucosé : pas de culture après 48 heures d'étuve.

EXPÉRIENCE 2 : *Ballon B.*

1° Après 24 heures d'étuve à 36° :

Aspect du bouillon : trouble.

Réaction de l'indol :

a) Avec nitrite de soude + ClH : nulle;

b) Avec réactif d'Ehrlich : nulle.

2° Après 48 heures d'étuve à 36° :

Aspect du bouillon : trouble.

Réaction de l'indol :

a) Avec nitrite de soude + ClH : nulle;

b) Avec réactif d'Ehrlich : nulle.

3° Examen microscopique de la culture après 48 heures d'étuve :

a) Entre lame et lamelle sans coloration : quelques micro-organismes immobiles;

b) Après coloration à la fuchsine de Ziehl : quelques micro-organismes forme cocci, de grosseurs différentes, à centre clair, parfois réunis par deux ou trois;

c) Après coloration au Gram : tous les micro-organismes prennent le Gram;

4° Ensemencements :

- a) Sur gélose simple : culture très légère après 24 heures d'étuve : un peu plus abondante après 48 heures;
- b) Sur gélose lactosée tournesolée : pas de culture après 48 heures d'étuve;
- c) Sur lait tournesolé : pas de culture après 72 heures d'étuve;
- d) Sur bouillon glucosé : pas de culture après 48 heures d'étuve.

5° Examen de la culture sur gélose simple :

- a) Entre lame et lamelle sans coloration : quelques micro-organismes immobiles;
- b) Après coloration par la fuchsine de Ziehl : coccobacilles ou cocci de dimensions différentes présentant un centre clair;
- c) Après coloration au Gram : mêmes micro-organismes; Gram négatif.

EXPÉRIENCE 3 : *Ballon C.*

1° Après 24 heures d'étuve à 42° :

Aspect du bouillon : trouble.

Réaction de l'indol :

- a) Avec nitrite de soude + ClH : nulle;
- b) Avec réactif d'Ehrlich : nulle.

2° Après 48 heures d'étuve à 42° :

Aspect du bouillon : trouble.

Réaction de l'indol :

- a) Avec nitrite de soude + ClH : nulle;
- b) Avec réactif d'Ehrlich : nulle.

3° Examen microscopique de la culture (?) après 48 heures d'étuve :

- a) Entre lame et lamelle : absence de micro-organismes;
- b) Après coloration à la fuchsine de Ziehl : absence de micro-organismes;

c) Après coloration au Gram: absence de micro-organismes.

4° Ensemencements :

a) Sur gélose simple : pas de culture après 48 heures d'étuve;

b) Sur gélose lactosée tournesolée : pas de culture après 48 heures d'étuve;

c) Sur lait tournesolé : pas de culture après 72 heures d'étuve;

d) Sur bouillon glucosé : pas de culture après 48 heures d'étuve.

EXPÉRIENCE 4 : *Ballon D.*

L'expérience 4 est, en tout point, exactement identique à l'expérience 3.

EXPÉRIENCE 5 : *Boîte E.*

Après 8 jours, 10 jours et 12 jours à la température ambiante, on ne voit pas sur le fond rouge du milieu de taches d'un beau bleu clair : pas de colonies de bacilles coli. Il a poussé cependant sur ce milieu onze colonies de la grosseur d'une tête d'épingle et de couleur gris noir.

L'examen microscopique, après simple coloration, a montré quelques cocci présentant plutôt une forme de diplocoque à centre clair.

EXPÉRIENCE 6 : *Boîte F.*

Après le même laps de temps, à la même température, pas de colonies de bacilles coli. Il a poussé sur ce milieu cinq colonies (deux de couleur blanche, trois de couleur noire) difficilement identifiables à cause de leur petitesse.

C. — Examen des résultats d'expériences.

Tout d'abord, un fait : il résulte de nos expériences qu'on ne trouve pas de bacille coli dans le côlon du marsouin que nous avons examiné.

Nos expériences ont été présentées objectivement, simplement, et autant que possible par le menu, de façon à montrer

avec exactitude ce que nous avons fait et comment nous avons fait : bien qu'elles ne semblent pas se prêter à la discussion ou à de longs commentaires, nous allons les examiner successivement et donner, s'il y a lieu, quelques éclaircissements.

EXPÉRIENCE 1. — Etant donné l'aspect noirâtre du bouillon, son odeur fécaloïde et, surtout, la réaction de l'indol, nettement positive, nous étions en droit d'être surpris de ne pas trouver de bacille coli après ensemencements sur nos différents milieux de culture. Sans doute, il n'y a pas que le bacille coli qui donne la réaction de l'indol : Gauthier a même pu dresser un tableau des microbes, pathogènes et non pathogènes, donnant cette réaction. Mais, puisque nos recherches portent sur la matière fécale, il est naturel et logique de penser que la réaction de l'indol provient ici du bacille coli.

Cependant, notre attention était attirée sur un fait : tandis que la réaction avec nitrite de soude + ClH donnait une réaction positive, le réactif d'Ehrlich donnait une réaction négative. Or, il n'est pas douteux que le réactif d'Ehrlich (paradiméthylamidobenzaldéhyde) est plus sensible que le réactif précédent. D'autre part, nous savons que le réactif d'Ehrlich, qui peut déceler une teneur infinitésimale d'indol dans une culture, ne donne aucune coloration avec les composés voisins. C'est ainsi que, dans le cas de différentes espèces bactériennes donnant une réaction légère avec la réaction au nitrite de soude, et ne donnant rien avec le réactif d'Ehrlich, la distillation a montré qu'il s'agissait de scatol.

Ne serait-ce pas le cas ici ?

Il est facile de s'en assurer. La culture traitée par le nitrite de soude et l'acide chlorhydrique, qui nous ont ainsi donné une coloration rose, est additionnée de 1 cc. de chloroforme. Nous agitons : la culture reste rose, et le chloroforme incolore. Nous décantons ; après quoi, nous ajoutons à la culture 1 cc. d'alcool amylique. Nous agitons à nouveau. Nous constatons alors que la culture, de rose qu'elle était, se décolore complè-

tement, et l'alcool amylique se charge de toute la matière colorante.

Ainsi, il n'y avait pas formation d'indol, mais bien de scatol, dans notre première expérience. Cela nous rassure pleinement quant à sa valeur.

EXPÉRIENCE 2. — Elle ne nous paraît pas appeler de commentaires.

EXPÉRIENCES 3 ET 4. — Notons tout d'abord que l'aspect trouble des milieux provient de la fiente qui s'y trouve diluée.

Ces expériences n'ont rien donné : cela ne saurait nous étonner outre mesure. Nous avons ailleurs nettement mis en évidence, dans des milieux de culture constitués par des décoctions de poissons dans l'eau de mer, peptonés ou non, le pouvoir inhibiteur de l'acide phénique, déjà dénoncé par MM. Dienert et Etrillart. Dans ces milieux spéciaux — dont nous avons emprunté la formule à J.-H. Guillemin : *Essais sur la bactériologie de l'eau de mer* — nous avons montré que l'acide phénique, ajouté simplement à la dose de 1 p. 1.000, empêchait toute culture.

A ce sujet, remarquons que notre eau peptonée phéniquée contenait 1 g. 20 d'acide phénique par litre, puisque résultant du dédoublement, avec de l'eau distillée stérile, de l'eau peptonée phéniquée concentrée, dont la formule suit :

Peptone Chapoteaut	60 g.
Sel marin	11 g.
Eau ordinaire	1.000 cc.
Solution d'acide phénique à 6 p. 100	40 cc.

EXPÉRIENCES 5 ET 6. — Ces recherches sur notre milieu solide, confirmant celles qui ont été faites par la méthode de Vincent, prouvent qu'il n'y a pas de bacille coli dans la fiente que nous avonsensemencée.

Ajoutons que nous avonsensemencé sur notre milieu solide, pour être plus sûr encore, la culture des expériences 1 et 2. Nous avons obtenu sensiblement les mêmes résultats que par ensemencement direct.

Avec les milieux des expériences 3 et 4, ensemencés sur notre milieu solide, nous n'avons pas obtenu, comme il fallait s'y attendre, une seule colonie.

CONCLUSION :

Alors qu'il est fondamental de considérer le bacille coli comme le saprophyte *constant* de l'intestin des mammifères, nous avons montré, le premier à notre connaissance, qu'au moins chez l'un d'entre eux il existe un *côlon sans bacille coli*.

TABLEAU III

Résumé de nos recherches du bacille coli dans le contenu intestinal du premier marsouin examiné.

SIX PRÉLEVEMENTS du contenu intestinal sont ensemencés						
	Ballons eau peptonée A et B		Ballons eau peptonée phéniquée C et D		Milieux solides E et F	
	37° noirâtre	37° trouble	42° trouble	42° trouble		
Après 48 heures d'étuve à....						
Aspect.....	0 (Scatol)	0	0	0		
Réactions de l'indol.....	+ (1)	+ (2)	0	0		
Cultures.....						
Réensemencements sur les quatre milieux suivants (cultures après 48 heures) :						
Gélose simple.....	0	+ (3)	0	0		
Gélose lactosée tournesolée.....	0	0	0	0		
Lait.....	0	0	0	0		
Bouillon glucosé.....	0	0	0	0		
Culture (1) ..	bacilles mobiles et non mobiles					
Examens microscopiques des cultures (1) (2) et (3) }	Gram +	cocci, Gram +				
Culture (2) ..	»	cocci, Gram —				
Culture (3) ..	»					
Après 12 jours à la température ambiante :						
Cultures.....	»	»	»	»	+	+
Nombre des colonies.....	»	»	»	»	11 gris noir	5 blanc et noir
Couleur des colonies.....	»	»	»	»		
Examen microscopique des colonies.....	»	»	»	»	cocci	P.
					Pas de colonies bleues	

Absence de bacille coli dans le contenu intestinal du marsouin examiné.

EXAMENS DE HUIT AUTRES MARSOUINS

Nous n'avons pas voulu rester sur une seule expérience. Depuis janvier 1932, nous avons examiné huit autres marsouins, capturés en des endroits différents et à des époques différentes.

Sur chacun d'eux, suivant la technique que nous avons déjà exposée, sept prélèvements de contenu intestinal, éloignés les uns des autres (mais toujours dans le gros intestin), sont faits. L'un de ces prélèvements est, séance tenante, examiné au microscope; les autres prélèvements sont ensemençés immédiatement et directement sur eaux peptonées, sur eaux peptonées phéniquées, et sur notre milieu solide.

EXPÉRIENCES.

1° *Examen direct.* — Chez aucun des marsouins l'examen direct, au microscope, du contenu intestinal n'a montré de bâtonnets à la fois mobiles et ne prenant pas le Gram. Le plus souvent, nous avons vu des bacilles, gros, immobiles, isolés ou en chaînettes de deux ou trois articles, qui donnent un Gram positif.

2° *Ensemencements sur eau peptonée.* — Les ensemencements du contenu intestinal sont faits sur 300 ou 100 cc. d'eau peptonée à 3 p. 100.

Les cultures sont examinées après 48 heures d'étuve à 37° :

- a) Entre lame et lamelle;
- b) Après coloration à la fuchsine de Ziehl;
- c) Après coloration au Gram;
- d) Ensemencées ensuite sur gélose simple, gélose lactosée tournesolée, lait tournesolé, bouillon glucosé.

Une seule fois, nous avons obtenu, après 3 jours d'étuve à 37°, un liquide parfaitement clair.

Tous les autres cas nous ont montré des cocci, isolés ou groupés en amas et en courtes chaînettes, immobiles, don-

nant un Gram positif, plus rarement des bacilles épais et longs, quelquefois réunis en chaînettes, dont quelques-uns sont légèrement mobiles. Bacilles comme cocci prennent tous le Gram. Ensemencés sur géloses, lait tournesolé, bouillon glucosé, nous n'avons jamais obtenu de culture.

3° *Ensemencements sur eaux peptonées phéniquées.* — Les ensemencements du contenu intestinal sont faits sur eaux peptonées phéniquées à 1 et à 1,20 p. 1.000 d'acide phénique.

Nous n'obtenons, pour aucun des marsouins, une culture qui donne une réaction d'indol positive.

Sauf un cas où nous avons trouvé un liquide parfaitement clair au bout de 48 heures d'étuve à 42°, toutes nos cultures nous montrent des cocci, isolés ou réunis par deux ou par trois, immobiles et prenant le Gram.

Les repiquages faits sur gélose lactosée, bouillon glucosé ou lait tournesolé n'ont donné aucune culture.

4° *Ensemencements sur notre milieu solide.* — Le contenu intestinal des marsouins, ensemencé sur notre milieu solide, n'a donné aucune colonie d'aspect coliforme.

Nous avons vu pousser des colonies dont l'étude a montré qu'il s'agissait de cocci isolés, prenant faiblement le Gram, d'autres, rares, ne prenant pas le Gram, de bacilles longs, filamenteux, ne prenant pas le Gram, et de bacilles courts prenant fortement le Gram.

Les repiquages de toutes ces colonies sur les milieux à réactions biochimiques n'ont donné aucune culture.

CONCLUSION :

Alors qu'il est classique de considérer le bacille coli comme le saprophyte *constant* de l'intestin des mammifères, nous avons montré qu'il peut y avoir des exceptions, et que, notamment, chez les neuf marsouins que nous avons examinés, *le côlon ne présente pas de bacille coli.*

TABLEAU IV

Résumé de nos recherches sur les mammifères marins.

9 mars uins sont examinés dès leur déchargement des chalutiers.

Date des examens

8 janvier 1932	7 prélèvements du contenu intestinal sont faits dans le côlon de chacun de ces 9 marsouins et sont étudiés.	Absence du bacille coli dans le côlon des 9 marsouins examinés.
12 avril 1932		
20 mai 1932		
10 décembre 1932		
18 mai 1933.....		
24 juin 1933		
29 octobre 1933.....		
4 décembre 1933		
22 janvier 1934		

POISSONS MARINS

Recherche du bacille coli dans le contenu intestinal des poissons marins.

Nous avons commencé nos recherches au début de 1931. A la fin de cette même année, nous rendions compte des résultats que nous avions trouvés et de la conclusion que, déjà, ils comportaient.

Nous avons poursuivi ces recherches pendant les trois années suivantes, et, à l'heure actuelle, les expériences que nous avons faites sur de nombreux poissons, appartenant à des espèces différentes et fort éloignées les unes des autres, complètent et confirment nos premières conclusions et leur apportent davantage d'autorité.

Nous avons examiné quatre sortes de poissons marins :

- 1° Des poissons ne vivant qu'en haute mer, dans un milieu totalement exempt de bacille coli;
- 2° Des poissons ne vivant guère que dans le Bassin d'Arcachon, dans un milieu qui renferme ou ne renferme pas de bacille coli, suivant la distance des côtes à laquelle on se trouve;
- 3° Des poissons vivant dans de grands bacs, où il est aisé de faire varier la teneur en bacille coli;
- 4° Des poissons morts achetés au marché.

Comment opérons-nous pour rechercher le bacille coli dans le contenu intestinal ?

a) **TECHNIQUE.** — Les prélèvements étaient faits comme suit : Le poisson, couché sur l'arête dorsale, était fixé sur une plaque de liège par de fortes épingles fichées dans chacune des branchies écartées et dans la région caudale. Les nageoires ventrales étaient coupées. Nous passions quelquefois sur la face ventrale soit une lame de fer portée au rouge, soit un tampon imbibé d'alcool-éther ou d'alcool iodé, puis le ventre était ouvert aseptiquement un peu plus haut que l'anus, de façon à ne pas toucher l'intestin. Les parois de l'abdomen étaient maintenues écartées. L'intestin était isolé des autres viscères, sans le déchirer, au moyen de la sonde cannelée. A l'endroit le plus favorable, son contenu étant le plus souvent vu par transparence, nous appliquions, juste le temps d'y toucher, la lance rougie de l'aiguille lancéolée. Avec une aiguille pointue stérile nous percions un trou dans cette petite surface du tube intestinal stérilisé par le fer rouge et, immédiatement après, nous enfoncions dans ce trou une pipette Pasteur stérile. Par aspiration, nous vidions le contenu intestinal, qui était aussitôtensemencé.

b) **CULTURES.** — Pour les cultures, nous nous sommes servi concurremment et continuellement de deux milieux :

α. *Le milieu de Vincent.* — Nous ensemençons à la fois sur eau peptonée à 3 p. 100 et sur eau peptonée phéniquée (1 g. 20 d'acide phénique par litre).

Nous cherchions à faire ensuite l'identification par les procédés classiques : examen microscopique, Gram, réaction de l'indol, repiquages sur gélose lactosée tournesolée, bouillon glucosé, lait tournesolé.

β. *Notre milieu solide.* — Nous ensemençons en stries sur notre milieu solide en boîte de Pétri.

γ. *Autres milieux.* — Pour échapper à cette objection possible que le milieu de Vincent ou notre milieu solide peu-

vent ne pas convenir exactement à nos recherches, étant donné que le bacille coli présente des variétés adaptatives extraordinaires et que, dans un intestin de poisson marin, il peut être autre que dans un intestin humain, nous avons réalisé des milieux spéciaux.

C'est ainsi que nous avons préparé un décocté de chair de poisson dans l'eau de mer, peptoné, pour le rendre plus nutritif, avec de la peptone de poisson à 10 ‰, neutralisé, filtré, et réparti dans des tubes qui furent ensuite stérilisés à l'autoclave.

Nous avons préparé ce même milieu, phéniqué à 1 ‰.

L'étude expérimentale des milieux précédents comme de tous ceux de même nature dont nous nous sommes servi nous a démontré :

1° Qu'ils ne conviennent pas du tout à la culture du bacille coli;

2° Que l'acide phénique a un pouvoir inhibiteur certain à 1 ‰, puisqu'à cette dose il suffit à empêcher toute culture dans ces milieux;

3° Qu'il ne saurait y avoir, comme nous avons tout lieu de le penser, des milieux de culture spéciaux et spécialement adaptés au bacille coli marin, pour cette raison première qu'il n'y a pas de bacille coli marin : le bacille coli que l'on trouve dans l'eau de mer, près des côtes habitées, n'est qu'un transplanté dans un milieu qui n'est pas fait pour lui et qui le détruira rapidement, ainsi que nous l'avons établi précédemment.

Nous en sommes donc resté, pour nos cultures, aux deux milieux différents cités plus haut, qui nous ont toujours donné des résultats identiques quant à la recherche du bacille coli dans le contenu intestinal des poissons marins.

Résultats.

Il serait fastidieux de décrire par le menu les recherches que nous avons faites sur tous les poissons marins que nous avons pu examiner. Tantôt nous trouvions des intestins pres-

que vides, tantôt bourrés de fiente verte ou noirâtre, tantôt contenant, comme certains intestins distendus de loches, des têtes ou des fragments de corps de crevettes.

Disons tout de suite que, de toute façon, chez aucun poisson nous n'avons trouvé un contenu intestinal présentant du bacille coli.

Néanmoins, il y a lieu d'apporter quelques détails sur notre travail.

1° POISSONS NE VIVANT QU'EN HAUTE MER.

Beaucoup de ces poissons, capturés en toute saison, pour la plupart par 100 mètres de fond dans le golfe de Gascogne, nous ont été apportés, vivants, dans des bassines remplies d'eau de mer prélevée sur le lieu de la pêche. D'autres nous ont été apportés morts, sans précaution spéciale. Il nous est arrivé parfois de trouver l'intestin rompu dans la cavité générale, vraisemblablement par décompression, vu la profondeur d'où le poisson a été brusquement tiré.

Rares sont lesensemencements sur eau peptonée ou sur notre milieu solide qui ne donnent aucune culture. Presque toujours, le contenu intestinal de nos poissons présente des germes divers, mais pas de bacille coli.

2° POISSONS NE VIVANT GUÈRE QUE DANS LE BASSIN D'ARCACHON.

Ayant la facilité de nous occuper de la pêche, nous avons pu prendre des poissons dans des conditions variées :

a) Poissons apportés vivants au laboratoire dans une bassine remplie d'eau de mer prélevée sur le lieu de la pêche et recouverte d'une plaque de verre, la bassine ayant été préalablement flambée;

b) Poissons apportés vivants au laboratoire sans précaution;

c) Poissons apportés morts, depuis 2 ou 3 heures, sans précaution;

d) Poissons pris au centre du Bassin d'Arcachon (dans un milieu sans bacille coli) et poissons pêchés à l'extrémité des jetées-promenades ou des embarcadères (dans un milieu plus ou moins riche en bacille coli).

Sauf exception, tous lesensemencements du contenu intestinal donnent des cultures, mais nous n'avons jamais identifié le bacille coli.

3° POISSONS VIVANT DANS DE GRANDS BACS.

Nous avons fait varier la teneur du bacille coli dans l'eau de mer de ces bacs. Mais, que l'eau contienne de 100 à 500 bacilles coli au litre ou qu'elle contienne de 20.000 à 40.000 coli au litre, les résultats sont les mêmes : les poissons marins qui vivent continuellement dans cette eau ont un contenu intestinal sans bacille coli.

4° POISSONS MORTS ACHETÉS AU MARCHÉ.

Nous nous sommes souvent trouvé en présence d'intestins aplatis et complètement vidés. Mais, chaque fois que nous avons pu procéder à nos examens habituels, nous n'avons jamais trouvé de bacille coli dans le contenu intestinal.

*
* *

Ainsi, sur 302 sujets examinés au cours de ces quatre dernières années, nous n'avons jamais trouvé un seul cas indiscutablement positif relativement à la présence du bacille coli dans le contenu intestinal des poissons marins, que ceux-ci vivent dans un milieu pollué ou non.

Ci-contre tableau V, résumant nos recherches du bacille coli dans le contenu intestinal des poissons marins.

TABEAU V

302 sujets examinés en quatre ans et comprenant 25 espèces de poissons marins.

ESPECES EXAMINEES	1931	1932	1933	1934
Soles (<i>Solea vulgaris</i> Risso)	3	4	2	»
Sardines (<i>Alosa sardina</i> Cuv.)	2	10	8	»
Congres (<i>Congea vulgaris</i> Cuv.)	»	2	»	»
Chiens (<i>Scyllium canicula</i> Cuv.)	1	2	»	»
Trogues (<i>Atherina presbyter</i> C. et Val.)	3	8	1	»
Bars (<i>Labrax lupus</i> Cuv.)	»	1	»	»
Mulets (<i>Mugil cephalus</i> Risso)	5	14	6	10
Maquereaux (<i>Scomber scomber</i> L.)	4	2	13	8
Anguilles (<i>Anguilla vulgaris</i> Cuv.)	»	2	1	»
Merlus (<i>Merluccius vulgaris</i> Cuv.)	3	4	2	»
Tacauds (<i>Gadus luscus</i> L.)	4	3	2	1
Vives (<i>Trachinus draco</i> L.)	»	1	»	»
Grisets (<i>Cantharus griseus</i> C. et Val.)	2	6	6	»
Rougets (<i>Mullus barbatus</i> C. et Val.)	4	2	8	6
Turbois (<i>Rhombus maximus</i> L.)	»	1	»	»
Carrelets (<i>Flesus vulgaris</i> L.)	1	2	2	»
Daurades (<i>Chrysophrys aurata</i> L.)	2	4	6	»
Baudroies (<i>Lophius piscatorius</i> L.)	1	2	1	»
Limandes (<i>Limanda vulgaris</i> Gottsche.)	»	3	1	»
Grondins gris (<i>Trigla gurnardus</i> L.)	4	4	2	10
Oëillets (<i>Pagellus erythrinus</i> L.)	4	2	»	5
Merlans (<i>Merlangus vulgaris</i> Bonap.)	2	6	3	»
Chichards (<i>Trachurus trachurus</i> Cuv.)	6	2	4	1
Raies (<i>Raja undulata</i> Lacep.)	»	4	1	»
Loches (<i>Gobius niger</i> L.)	24	8	6	12

Le contenu intestinal de ces poissons ne présente pas de bacille coli

*
* *

Il est bien certain que, dans ces conditions, le bacille coli est détruit dans le tube digestif du poisson marin.

Pour mettre ce fait bien en évidence, nous avons fait ingérer, de gré ou de force, à différents poissons (mules, rougets, grondins gris, loches, etc.), de la mie de pain trempée et malaxée dans un bouillon de culture pure de bacille coli âgée de 24 et de 48 heures. Nous avons ensuite procédé à la recherche du bacille coli dans le tube digestif par nos méthodes habituelles. Les expériences montrent, quand le sujet résiste suffisamment à ce repas d'épreuve :

1° qu'on retrouve toujours le bacille coli 1/2 heure après l'ingestion;

- 2° qu'on le retrouve le plus souvent après 1 heure;
- 3° qu'on le retrouve rarement après 2 heures;
- 4° que, sauf exception, on ne le retrouve plus après 3 heures.

Ainsi est-il démontré expérimentalement que le poisson marin détruit le bacille coli. C'est un résultat. Mais il porte en lui des conclusions, et nous voudrions pouvoir expliquer comment et pourquoi le bacille coli est détruit dans le tube digestif du poisson marin : « Ce n'est pas assez, dit Montaigne, de compter les expériences; il les faut peser et assortir; il les faut avoir digérées et alambiquées pour en tirer les raisons et conclusions qu'elles portent. »

En vue donc de « tirer les raisons » des résultats expérimentaux que nous avons acquis, nous avons essayé de faire de l'extrait intestinal de poisson marin, à seule fin d'étudier son action bactéricide sur le bacille coli. Nous avons notamment préparé des autolysats, dans l'eau de mer, d'intestins coupés en fragments — sous toluène — 24 et 48 heures à 27° et 35°. Ces liquides, filtrés, ne sont ni antiseptiques, ni infertilisants vis-à-vis des cultures de bacille coli.

Nous avons encore procédé d'une autre façon. Nous avons fait tomber dans des ballons contenant des cultures de bacille coli des tronçons d'intestins de poissons marins. Nous avons fait varier la quantité de ces fragments d'intestins, ainsi que le temps de contact. Par comparaison avec des ballons-témoins, nous n'avons constaté aucune action antiseptique.

Parallèlement, ayant placé dans des ballons d'eau peptonée des poids différents de tronçons d'intestins de poissons marins, et ayantensemencé ensuite le bacille coli, nous n'avons pas constaté, vu les ballons-témoins, de pouvoir infertilisant, et là encore nous avons fait varier la durée de contact.

Il semblerait donc que les cultures de bacille coli sont indifférentes aux intestins de poissons marins.

Les causes de la destruction du bacille coli dans le tube digestif du poisson marin restent à trouver.

CONCLUSIONS :

1° Le bacille coli ne se trouve pas dans le contenu intestinal des poissons marins;

2° Le bacille coli est rapidement détruit dans le tube digestif des poissons marins.

CEPHALOPODES

Recherche du bacille coli dans l'intestin des seiches.

Il y a quatre ans, nous écrivions : « Une expérience que nous avons faite incidemment sur une seiche nous a montré que ce mollusque nageur n'avait pas, lui non plus, de bacille coli dans son tube digestif. »

Depuis, nous avons multiplié les expériences sur les seiches (*Sepia officinalis*), qui vivent nombreuses au voisinage immédiat du Bassin d'Arcachon.

6 seiches ont été examinées en 1932; 3 en 1933; 2 en 1934.

Ces animaux, pris au chalut, nous ont été apportés vivants dans des seaux remplis d'eau de mer puisée à l'endroit de la capture. Nous avons pratiqué le prélèvement du contenu intestinal d'une façon aseptique et avec les précautions que nous avons déjà eu l'occasion d'exposer à différentes reprises. La recherche du bacille coli dans le contenu intestinal a été faite sur nos milieux habituels (eau peptonée simple, eau peptonée phéniquée) et par les méthodes classiques de différenciation. Nous nous sommes servi aussi, chaque fois que nous l'avons pu, de notre milieu solide.

Aucune des 14 seiches que nous avons examinées ne présentait de bacille coli dans son intestin.

LAMELLIBRANCHES MARINS

Le bacille coli et le contenu intestinal de l'huître.

Trouve-t-on du bacille coli *dans l'intestin* de l'huître ?
Voilà la seule question à laquelle nous avons cherché à répondre dans ce qui suit :

Trois lots de six huîtres ont été examinés.

Un premier lot a été prélevé directement dans un parc;

Un deuxième lot a été acheté, chez un marchand, à Bordeaux;

Un troisième lot est constitué par des huîtres qui ont séjourné 20 jours dans l'égout situé sous la jetée d'Eyrac (Arcachon).

L'examen de toutes ces huîtres a été fait de la même façon :

Les huîtres, les bords préalablement flambés, ont été ouvertes avec un couteau stérile.

L'eau intervalvaire a étéensemencée en eau peptonée phéniquée et sur notre milieu solide.

L'huître a été vidée aussi complètement que possible de son eau intervalvaire.

Il a été procédé ensuite à la recherche du bacille coli dans l'intestin.

Comment ?

Le rectum a été ligaturé avec un fil. A l'aide de pinces et du bistouri, l'intestin a été isolé soigneusement, jusqu'à son entrée dans le cœur.

Une fois isolé, l'intestin a été séché, autant que faire se peut, par attouchements répétés avec des papiers-filtres.

La sonde cannelée a été passée sous l'intestin, de façon à le faire reposer sur le plan de la sonde.

Avec la face plane d'une fine aiguille lancéolée, préalablement rougie à la flamme, un léger attouchement a été fait à l'endroit de l'intestin jugé le plus favorable, endroit déterminé soit par le ruban de matière fécale que l'on voit par

transparence à l'intérieur de l'intestin, soit par la grosseur de l'intestin à certains points. Un premier attouchement a été souvent indispensable pour l'assèchement complet du tissu. Un deuxième a stérilisé l'endroit touché.



A cet endroit, et avec une aiguille pointue et rougie à la flamme, un trou a été percé, et immédiatement, dans ce trou, a été enfoncée, en suivant l'intestin dans la direction de l'anus, une pipette Pasteur stérile, préalablement étirée en un fil aussi fin que possible.

La matière fécale a été aspirée dans la pipette.

L'ensemencement a été fait :

- a) en eau peptonée phéniquée;
- b) sur notre milieu solide.

Avec ce mode opératoire, sur les 18 huîtres d'origine différente qui ont été soumises à nos recherches :

10 huîtres contenaient du bacille coli, en quantité plus ou moins forte, dans leur eau intervalvaire;

Le contenu des 18 intestins que nous avons examinés, ne présentait pas de bacille coli.

*
* *

Sans prétendre apporter un témoignage nouveau au procès de l'huître, qui dure depuis cinquante ans, nous croyons devoir ajouter aux résultats donnés plus haut la courte étude suivante. Nos recherches portent :

1° Sur les huîtres prélevées directement dans six parcs différemment situés au point de vue salubrité;

2° Sur des huîtres placées pendant 1 mois et 2 mois dans l'égout et tout près de l'orifice de l'égout qui se trouve sous la jetée d'Eyrac (Arcachon);

3° Sur des huîtres placées pendant 1 mois et 2 mois dans un bac contenant de l'eau de mer polluée, et dont on entretenait la contamination par l'apport de nouveaux bacilles (cette eau contient continuellement de 10.000 à 60.000 bacilles coli au litre);

4° Sur des huîtres du même lot que les précédentes (même origine, même âge, et ramassées en même temps au même parc), mais placées pendant 1 mois et 2 mois dans un bac contenant de l'eau de mer stérile, — stérile au moment où nous y déposons les huîtres.

Les recherches du bacille coli dans l'eau de mer sont faites à l'aide du milieu de Vincent (eau peptonée phéniquée) et à l'aide de notre milieu solide.

Les recherches du bacille coli chez l'huître sont faites suivant la technique classique, et avec les précautions d'usage :

- a) au moyen de la méthode de Vincent, concurremment avec notre milieu solide pour l'eau intervalvaire;
- b) au moyen du seul milieu de Vincent pour le corps de l'huître, qui est dilacéré, puisensemencé.

Les nombreuses analyses que nous avons faites simultanément sur les huîtres et sur le milieu marin dans lequel elles vivent nous amènent aux conclusions suivantes :

1° La présence constante du bacille coli, même en quantité considérable, dans un milieu marin n'implique pas forcément, et *ipso facto*, la présence du bacille coli chez l'huître qui vit continuellement dans ce milieu;

2° Le nombre de bacilles coli chez l'huître n'est pas en rapport avec le nombre de bacilles coli dans l'eau de mer où elle vit.

CRUSTACES MARINS

Le bacille coli et l'intestin des crustacés marins.

Poursuivant nos recherches expérimentales sur le bacille coli chez les animaux marins, nous nous sommes adressé, cette fois, aux crustacés marins.

Nous avons choisi comme matériel d'expérience les crabes.

1° Crabes capturés en mer dans le voisinage du banc de Pinau.

La recherche porte sur 12 araignées de mer (*Maia squinado*) de forte taille, prises au chalut à des époques différentes. Ces animaux sont apportés au laboratoire dans des seaux remplis d'eau de mer puisée à l'endroit de la capture. A ce même endroit, un prélèvement d'eau de mer (eau de surface) est fait; il est constitué par la prise de trois échantillons de 50 cc., en vue de rechercher le bacille coli.

a) L'analyse bactériologique de notre eau de mer (au moyen du milieu de Vincent concurremment avec notre milieu solide), soit 36 échantillons examinés, ne nous a jamais montré la présence du bacille coli.

b) Privée de ses pinces, l'araignée de mer est épinglée vivante sur le liège. L'intestin est isolé soigneusement. Nous opérons le prélèvement du contenu intestinal d'une façon

rigoureusement aseptique, soit par aspiration avec une pipette Pasteur très effilée et stérile, et en prenant les précautions que nous avons déjà indiquées pour les poissons marins, soit à l'aide d'une seringue de Pravaz et d'une aiguille tronquée stériles.

Nous ensemençons le contenu intestinal :

- α. dans l'eau peptonée à 30 ‰;
- β. dans l'eau peptonée, phéniquée à 1 ‰;
- γ. sur notre milieu solide, si la matière fécale est suffisamment molle.

A noter qu'il nous est arrivé de rencontrer une matière fécale très dure et d'avoir ensemencé dans l'eau peptonée et l'eau peptonée phéniquée le tube intestinal avec son contenu sectionné en courts tronçons.

Chez aucun des 12 sujets examinés, les différentes cultures que nous avons faites ne nous ont jamais montré la présence du bacille coli.

2° Crabes capturés dans le bassin d'Arcachon, à moins de 100 mètres de l'extrémité des jetées-promenades de la ville d'Arcachon.

Nos recherches portent sur :

- 6 crabes communs (*Carcinus moenas*);
- 4 tourteaux (*Cancer pagurus*).

A chaque fois que nous avons pris un de ces crabes, un prélèvement d'eau de mer (eau de surface) était fait à l'endroit même de la capture.

a) Sur les 10 prélèvements d'eau de mer (3 échantillons de 50 cc. pour un prélèvement), 7 nous ont donné un résultat positif quant à la présence du bacille coli (sur milieu de Vincent et sur notre milieu solide).

b) Sur chacun des crustacés vivants, le contenu intestinal a été prélevé aseptiquement comme précédemment et ensemencé sur les trois milieux déjà désignés.

Aucune des cultures que nous avons faites n'a décelé la présence du bacille coli.

3° Crabes pris dans l'un des bacs, rempli d'eau de mer,
de la Station biologique d'Arcachon.

a) Nous retirons de l'eau du bac une araignée de mer. En même temps, nous opérons un prélèvement de l'eau du bac (3 échantillons de 50 cc.), qui estensemencée sur eau peptonée phéniquée et sur notre milieu solide. Les cultures montrent que l'eau contient du bacille coli et les numérations nous donnent un chiffre de 70 à 400 coli par litre.

b) Sur l'animal vivant, l'intestin est isolé aseptiquement. Nous nous trouvons en présence d'une matière fécale noire, homogène, dure : impossible d'en retirer le plus petit fragment avec nos procédés habituels. Au moyen d'une pince flambée, nous prenons l'extrémité de l'intestin. Nous l'échancrons, ce qui nous permet de saisir à la pince le bout d'un ruban de matière fécale, résistant à la traction, de 5 centimètres de long environ.

Cette matière est sectionnée en deux parties, l'uneensemencée sur notre eau peptonée simple, l'autre sur notre eau peptonée phéniquée.

Après 48 heures de séjour aux étuves, l'eau peptonée phéniquée est parfaitement limpide (aucune culture); l'eau peptonée simple est trouble, mais ne donne pas la réaction de l'indol, ni par le réactif HCl-nitrite de soude, ni par le réactif d'Ehrlich (paradiméthylamidobenzaldéhyde).

L'examen de cette culture en eau peptonée montre des cocobacilles immobiles et qui prennent fortement le Gram. Après 4 jours d'étuve à 37°, le bouillon peptoné ne donne toujours aucune réaction de l'indol.

Absence de bacille coli dans le contenu intestinal de cette araignée de mer.

Autres expériences.

Nous retirons de l'eau du bac :

- a) un crabe commun vivant;
- b) un crabe commun crevé depuis 20 heures environ.

1° Comme habituellement, en même temps que nous retirons ces crabes de l'eau, nous faisons l'analyse de cette eau au point de vue bacille coli. (Nous nous servons toujours, à la fois, de l'eau peptonée phéniquée et de notre milieu solide.) L'eau présente une teneur de 50 à 70 bacilles coli par litre.

2° Les 2 crabes sont soumis aux mêmes expérimentations.

La matière fécale est retirée aseptiquement de l'intestin. Chez le crabe vivant, matière noire, homogène, consistante. Chez le crabe crevé, matière molle et peu abondante.

Nous ensemençons ces contenus intestinaux dans l'eau peptonée et l'eau peptonée phéniquée. Nous avons :

eau peptonée simple + matière crabe vivant = bouillon A;
eau peptonée phéniquée + matière crabe vivant = bouillon B;
eau peptonée simple + matière crabe crevé = bouillon C;
eau peptonée phéniquée + matière crabe crevé = bouillon D.

Au bout de 24 heures de séjour aux étuves, l'examen donne :

Bouillon A : Trouble, de couleur légèrement noirâtre.
Bouillon B : Légèrement trouble;
Bouillon C : Limpide;
Bouillon D : Limpide.

Après 48 heures d'étuve :

Bouillon A : Trouble, de couleur noirâtre, donne avec le réactif HCl-nitrite de soude une nette coloration rouge (ne donne rien avec le réactif d'Ehrlich). La matière colorante traitée à l'alcool amylique s'y dissout entièrement : elle est donc scatolyxique.

Bouillon B : Trouble, pas de coloration, ni avec le réactif nitrite de soude-HCl, ni avec le réactif d'Ehrlich.

Bouillon C : Limpide, pas de culture.

Bouillon D : Limpide, pas de culture.

Repiquage des bouillons A et B sur gélose lactosée tournesolée et sur gélose glucosée au rouge neutre.

Bouillon A : Après 24 heures d'étuve, aucune réaction fermentative des milieux.

Après 4 jours, nous notons la décoloration de la gélose lactosée, mais sans fermentation.

L'examen microscopique des cultures montre des bacilles immobiles et prenant le Gram (quelques-uns présentent une spore terminale affectant la forme d'une raquette).

Après 8 jours, le bouillon A, examiné de nouveau, donne une coloration rouge nette avec les deux réactifs : HCl-nitrite de soude et Ehrlich. De plus, cette coloration rouge est soluble, à la fois, dans le chloforme (indol) et dans l'alcool amylique (scatol).

Le bouillon A est alors de nouveau repiqué sur gélose lactosée tournesolée et sur gélose glucosée au rouge neutre.

Après 24 heures d'étuve à 37°, les milieux présentent une très légère fermentation sans décoloration.

Mais l'examen microscopique des cultures montre les mêmes bacilles immobiles, prenant le Gram, dont quelques-uns ayant une spore terminale.

Nous pouvons donc conclure à l'absence de bacille coli dans le bouillon A.

Bouillon B : Repiqué sur gélose lactosée tournesolée et gélose glucosée au rouge neutre, le bouillon B ne donne rien sur ces milieux, ni après 24 heures, ni après 48 heures d'étuve.

Pas de bacille coli.

Bouillon C : Se trouble après 3 jours d'étuve à 37°.

Il ne donne aucune réaction colorée, ni avec le réactif HCl-nitrite de soude, ni avec le réactif d'Ehrlich.

L'ensemencement sur gélose lactosée tournesolée, bouillon glucosé, gélose glucosée rouge neutre, lait tournesolé, ne donne rien, ni après 24 heures, ni après 48 heures d'étuve.

Pas de bacille coli.

Bouillon D : Limpide après 4 jours d'étuve.
Pas de bacille coli.

TABLEAU VI

Résumé de nos recherches simultanées du bacille coli dans le contenu intestinal d'un crabe vivant et dans celui d'un crabe crevé.

A et B, fiente du crabe vivant. C et D, fiente du crabe crevé.	BALLONS eau peptonée A et C		BALLONS eau peptonée phéniquée B et D	
	37° trouble 0 (scatol)	37° limpide 0	42° trouble 0	42° limpide 0
Après 48 heures d'étuve à				
Aspect				
Réactions de l'indol				
Réensemencements sur :				
Gélose lactosée tournesolée . . .	+ (1)		0	
Gélose glucosée rouge neutre . .	0		0	
(cultures après 48 heures)				
Examen microscopique de la culture (1)	bacilles immobiles Gram +			

Absence de bacille coli dans le contenu intestinal des 2 crabes examinés.

Examen des résultats.

24 crabes vivants et 1 crabe crevé ont été examinés : le contenu intestinal d'aucun de ces animaux ne présentait de bacille coli. Voilà un premier résultat acquis.

Mais ce n'est point au hasard que nous avons pris le crabe comme sujet d'expérience. Notre choix s'est porté sur le crabe : 1° parce qu'il est au nombre des crustacés les plus élevés en organisation; 2° à cause de son mode d'existence.

Le crabe est un des crustacés les plus différenciés; c'est aussi un des plus gros. Il ne vit pas d'une existence strictement marine, d'où chances de contamination plus grandes, et qui deviennent considérables s'il se trouve au voisinage immédiat des côtes habitées, où la présence du bacille coli est, le plus souvent, entretenue par l'apport constant de nouveaux bacilles. De plus, son alimentation variée et aussi peu choisie que possible le place mieux que les autres crustacés

marins pour recueillir le bacille coli. Il est donc naturel de s'adresser de préférence au crabe si l'on veut rechercher le bacille coli dans le contenu intestinal des crustacés marins.

Nos expériences ont montré que les crabes vivant en milieu marin ne présentent pas de bacille coli dans leur intestin, même si l'eau de mer dans laquelle ils vivent renferme du bacille coli.

Etant donnée, par comparaison aux autres crustacés marins, l'organisation supérieure du crabe, son habitat, sa nourriture, et, plus généralement, son mode d'existence, nous nous croyons autorisé à procéder par induction entre les différents ordres de la classe des crustacés, car nous pensons que, si les décapodes ne présentent pas de bacille coli dans leur contenu intestinal, à plus forte raison les autres crustacés marins ne sauraient en présenter.

Nous dirons donc, et ce sera *notre conclusion* :

Les crustacés marins ne présentent pas de bacille coli dans leur intestin.

VERS MARINS

Le bacille coli et le contenu intestinal des siponcles.

En juin 1933, nous avons, à la bêche, creusé un trou sur la plage, à marée basse, au Cap-Ferret. Nous avons trouvé, à 40 ou 50 centimètres de profondeur, 2 gros siponcles.

Ces siponcles furent examinés, au laboratoire, encore vivants.

Les contenus intestinaux (prélevés suivant notre technique et avec nos précautions habituelles) ont étéensemencés à la fois sur eau peptonée, eau peptonée phéniquée et sur notre milieu solide.

Les examens microscopiques et cultures n'ont pas montré de bacille coli dans les contenus intestinaux.

CONCLUSION :

Absence de bacille coli dans l'intestin des 2 siponcles examinés.

TABLEAU VII

Céphalopodes, lamellibranches marins, crustacés marins, et vers marins,
dont le contenu intestinal a été examiné.

	1931	1932	1933	1934
Février ..	—	—	—	6 huîtres de parc.
Mars	—	—	2 crabes dont 1 crevé.	6 huîtres de marchd.
Avril	—	—	5 araignées de mer.	6 huîtres ds égout.
Mai	—	—	6 crabes communs.	—
Juin	1 seiche	2 seiches	2 siponcles.	2 seiches.
Juillet ...	—	1 seiche	8 araignées de mer.	—
Août	—	1 seiche	4 tourteaux.	—
Septembre	—	2 seiches	5 seiches.	—

Absence de bacille coli dans le contenu intestinal de ces animaux marins.

*Conclusion de nos recherches du bacille coli
dans le contenu intestinal des animaux marins.*

Que peut-on penser des résultats que nous avons acquis ?

Pouvons-nous en déduire que tous les animaux marins, morts ou vifs, présentent des contenus intestinaux sans bacille coli ?

Sans doute, le nombre de nos recherches, qui ne portent que sur quelques centaines d'animaux, est tout à fait insignifiant, en regard de la diversité et du nombre prodigieux des animaux vivant dans les mers.

Mais il faut remarquer que ce n'est pas sur le chiffre des animaux examinés qu'il y a lieu de tabler ici pour arriver à conclure. Ce qui importe le plus, et à beaucoup près, ce sont les conditions dans lesquelles les examens ont été faits. Il est naturel de penser que si des animaux marins vivant habituellement dans une eau contaminée constamment par le bacille coli nous présentent à l'autopsie un intestin vierge de bacille coli, à plus forte raison un animal, quel qu'il soit, vivant en haute mer, dans un milieu totalement exempt de bacille coli, ne saurait présenter du bacille coli dans son intestin. De sorte que les résultats que nous donnons, bien

que peu nombreux, nous apparaissent comme ayant une valeur générale quant aux animaux marins.

Nous croyons donc pouvoir dire que *les animaux marins ne présentent pas de bacille coli dans leur tube digestif*, et ce sera notre conclusion.

TABLEAU VIII

Résumé de nos recherches du bacille coli dans le contenu intestinal des animaux marins.

ANIMAUX EXAMINÉS	BACILLE COLI dans le contenu intestinal
9 marsouins	0
302 poissons comprenant 25 espèces	0
14 seiches	0
18 huitres	0
25 crabes et araignées de mer.....	0
2 siponcles	0

Soit 370 animaux marins sans bacille coli dans leur contenu intestinal.

II

ANIMAUX A LA FOIS MARINS ET D'EAU DOUCE

Le bacille coli se rencontre-t-il dans l'intestin des poissons à la fois marins et d'eau douce ?

Ayant déjà montré, et de nouvelles expériences étant venues confirmer que les poissons marins ne présentent jamais de bacille coli dans leur intestin, il est permis de se demander si le bacille coli se trouve dans l'intestin des poissons à la fois marins et d'eau douce.

Nous avons fait deux séries de recherches expérimentales.

Une première série a porté sur des poissons qui vivent tantôt en eau douce et tantôt dans la mer, et qui ont été capturés dans les fleuves, loin de la mer.

Une deuxième série a porté sur des poissons vivant habituellement dans l'estuaire des fleuves, c'est-à-dire dans un milieu à la fois marin et d'eau douce.

Première série d'expériences.

1° Un saumon (*Salmo salar* L.) a été examiné quelques instants après avoir été pêché dans les eaux de la Loire, à quelques kilomètres de Blois.

La recherche du bacille coli dans l'intestin a été faite au moyen de nos procédés et techniques habituels : résultat négatif.

L'eau de la Loire, à l'endroit et au moment de la capture, donnait 300 coli au litre.

2° Un autre saumon, pris 1 mois après dans les mêmes parages, a été de nouveau examiné : pas de bacille coli dans son intestin.

L'eau de la Loire donnait 900 coli au litre à l'endroit et au moment de la capture.

3° 30 aloses (*Alausa vulgaris* Cuv.-val), pêchées à des endroits et à des époques différents, nous ont apporté 30 résultats négatifs quant à la présence du bacille coli dans leur intestin.

L'eau des fleuves ou rivières dans lesquels elles vivaient contenait, aux moments et aux endroits de la pêche, un nombre de coli variant de 200 à 2.000 au litre.

Deuxième série d'expériences.

1° Sur les bords de la Garonne, à Bassens, nous avons pu examiner sur place 11 goujons (*Gobio fluviatilis* Bell) venant d'être pêchés à l'appât. 1 seul sujet nous a donné un résultat douteux. Les 10 autres ne présentaient pas de bacille coli dans leur intestin, alors que les eaux de la Garonne contenaient, au moment et à l'endroit de la pêche, 41.000 bacilles coli au litre. A ce même endroit et à ce même moment, l'eau contenait 2 g. 40 de chlorure par litre.

2° Dans une bouche de la Leyre, nous prenons, à quelques jours d'intervalle, 42 goujons. Ils nous donnent 42 résultats négatifs quant à la présence du coli dans leur intestin.

L'eau, aux endroits et aux moments de la pêche, contient de 9 g. 80 à 12 g. 04 de chlorures, et de 700 à 1.400 bacilles coli au litre.

Résultats.

Sur 85 individus examinés, nous n'avons rencontré qu'un seul cas douteux; 84 poissons, à la fois marins et d'eau douce, avaient un intestin sans bacille coli.

Mais, à la suite de ces résultats, il y a lieu de mentionner d'autres faits intéressants.

Avant que les présentes recherches ne soient publiées, nous

avons eu, en effet, la satisfaction de prendre connaissance d'une thèse pour le doctorat en pharmacie intitulée : « *Coli bacille et milieu intestinal chez les poissons d'eau douce.* » (U. B., 1933.)

Au cours de ce consciencieux travail, nous avons noté qu'un lot de 4 aloses (p. 21), un lot de 15 aloses (p. 23), et un lot de 8 aloses (p. 28), soit un total de 27 aloses, examinées en vue de rechercher le bacille coli dans leur intestin, ont donné 27 résultats négatifs. A remarquer que, sur ces 27 aloses, 19 ont été prises en rivière et 8 pêchées à l'appât dans les eaux particulièrement souillées de la Garonne, à Bordeaux même.

D'autre part (p. 24), 6 goujons ont été pêchés à la main, à marée basse, dans un bras de la Bidassoa (l'eau contient 30.000 coli au litre au moment de la pêche). Sur les 6 goujons, 1 seul présente dans son intestin du bacille coli, coli qui donne d'ailleurs de faibles réactions biochimiques.

Ainsi, sur 33 poissons à la fois marins et d'eau douce capturés dans les conditions qui nous intéressent, l'auteur a trouvé 32 résultats négatifs et 1 seul positif.

Ces résultats complètent et confirment les résultats que nous avons trouvés nous-même.

CONCLUSION :

Le bacille coli ne se rencontre qu'exceptionnellement dans l'intestin des poissons à la fois marins et d'eau douce.

III

ANIMAUX D'EAU DOUCE

POISSONS D'EAU DOUCE

Recherche du bacille coli dans le contenu intestinal des poissons d'eau douce.

Nos recherches ont porté :

- sur des poissons d'étangs;
- sur des poissons de rivière ou de fleuve, très loin de la mer;
- sur des poissons d'aquarium.

1° Poissons d'étangs.

Au cours des années 1933 et 1934, nous avons pu examiner les 21 poissons suivants, provenant de l'étang de Cazaux :

- 11 brochets (*Esox Lucius* L.);
- 5 carpes (*Carpus Carpio* L.);
- 2 anguilles (*Anguilla vulgaris* Cuv.);
- 3 tanches (*Tinca vulgaris* Cuv.).

Tous ces poissons ont été capturés à des époques différentes et de différentes façons (à l'appât, à la cuillère, au filet). Certains d'entre eux ont été apportés au laboratoire dans des seaux pleins d'eau, recueillie sur le lieu même de la pêche; les prélèvements du contenu intestinal ont été faits sur les animaux encore vivants. D'autres nous ont été apportés enveloppés sans précautions dans du papier et furent examinés de 3 à 6 heures après leur mort.

Sur ces 21 poissons, 20 nous ont donné des résultats négatifs au point de vue bacille coli dans leur contenu intestinal.

Un seul, une anguille, ouverte 5 heures environ après sa mort, et qui nous avait été apportée enroulée dans un journal, nous a donné un résultat très nettement positif. Son contenu intestinal nous a montré un bacille coli d'une grande vitalité, si l'on en juge par son extrême mobilité, la réaction de l'indol rapide et intense qu'il donna en milieux peptonés et peptonés phéniqués, la fermentation abondante qu'il a provoquée sur gélose lactosée tournesolée et sur bouillon glucosé, et par la coagulation totale, en moins de 30 heures, d'un lait écrémé stérile en tubes.

Notons que par deux fois les analyses que nous avons faites de l'eau de Cazaux (eau de surface), que nous avons prélevée à l'heure et sur le lieu même de la pêche, nous ont donné des résultats négatifs quant à la présence du bacille coli, mais il est juste de remarquer que ces prélèvements furent opérés alors que la barque qui nous portait était ancrée depuis 2 heures à 150 mètres environ au sud-ouest de la prise d'eau de la ville d'Arcachon, c'est-à-dire loin des rives.

POISSONS D'ÉTANGS NE PROVENANT PAS DIRECTEMENT DE L'ÉTANG DE CAZAUX.

Le 13 décembre 1934, un médecin nous a apporté dans un sac d'étoffe 3 anguilles malades, provenant de pêcheries des Landes, en vue de chercher à définir la maladie qui décimait alors les anguilles de ces pêcheries.

Ces anguilles étaient, nous a-t-on dit, originaires de l'étang de Biscarrosse-Parentis-Gastes-Sainte-Eulalie.

Deux de ces anguilles malades furent examinées encore vivantes. L'étude bactériologique du contenu intestinal de chacune d'elles montra la présence de différents micro-organismes — notamment des *cocci* et du *proteus* — mais ne montra pas de bacille coli.

Une troisième, morte, avait l'intestin complètement vidé. Dans les quelques gouttes d'un liquide blanchâtre que nous avons cependant pu retirer de cet intestin, nous n'avons pas décelé la présence de bacille coli.

2° Poissons de rivière et de fleuve.

Ces poissons ont été pêchés à Nevers, au cours des étés 1933 et 1934 :

- a) dans la rivière Nièvre;
- b) dans le canal dit de jonction;
- c) dans le fleuve Loire.

Tous ont été capturés à l'appât : dans la Nièvre avec de la mie de pain malaxée avec du chènevis; dans le canal avec des larves; dans la Loire avec des lombrics.

Les eaux de la Nièvre, du canal et de la Loire contenaient du bacille coli — en plus ou moins grande quantité — à chaque fois que nous avons fait des prélèvements d'eau.

Nous avons pu examiner 25 poissons, dont :

- 3 gardons (*Leuciscus rutilus* L.),
- 8 ablettes (*Alburnus lucidus* Heckel),
- 4 vairons (*Phoxinus laevis* Auger),

pêchés dans la Nièvre;

- 2 tanches,
- 5 goujons (*Gobio fluviatilis* Bell),

pêchés dans le canal;

- 1 gardon,
- 1 barbeau (*Barbus fluviatilis* Cuvier),
- 1 brochet,

pêchés dans la Loire.

Sur ces 25 poissons, seule, pêchée dans le canal au mois de juillet 1933, une tanche, ouverte vivante, et dont l'intestin était extraordinairement bourré, nous a donné un con-

tenu intestinal présentant du bacille coli : bacille à peine mobile et difficilement identifié à cause de sa très minime action sur les milieux à réactions biochimiques, ce qui exigea de nombreux repiquages.

Les 24 autres poissons, examinés les uns encore vivants, les autres morts depuis plusieurs heures, nous donnèrent un résultat négatif quant à la présence du bacille coli dans leur contenu intestinal.

3° Poissons d'aquarium.

Nous avons examiné 6 cyprins (*Carassius auratus* L.) que nous avons pris dans un minuscule aquarium, où ils vivaient depuis plusieurs mois. L'eau de cet aquarium contenait du bacille coli — de l'ordre de 100 bacilles coli au litre — au moment où nous avons retiré les poissons. Les 6 poissons furent examinés au point de vue qui nous intéresse : leur contenu intestinal ne présentait pas de bacille coli.

TABLEAU IX

Le contenu intestinal de 55 poissons d'eau douce a été examiné.

ANNÉES	POISSONS d'étangs	POISSONS de rivières ou de fleuves	POISSONS d'aquarium
1933	10 brochets. 5 carpes. 2 anguilles dont 1 positive (étang de Cazaux)	3 gardons. 8 ablettes. 3 vairons. 2 tanches dont 1 positive (canal à Nevers) 4 goujons. 1 barbeau. 1 brochet.	6 cyprins.
1934	1 brochet. 3 tanches. 3 anguilles.	1 gardon. 1 vairon. 1 goujon.	

Le bacille coli n'a pu être décelé que dans le contenu intestinal d'une anguille et dans celui d'une tanche.

Ainsi, sur 55 poissons d'eau douce, 2 seulement nous ont montré du bacille coli dans leur intestin.

Nous ne pouvons que rapprocher ces résultats de ceux déjà trouvés par Montin, qui, ayant examiné près de 250 poissons d'eau douce (étangs, rivières, torrents) dans des conditions variées d'existence, et n'ayant trouvé que 3 ou 4 porteurs de bacille coli dans leur intestin, arrive à cette conclusion que nous faisons nôtre : « *Le coli bacille n'est pas l'hôte normal et constant, mais bien l'hôte exceptionnel de l'intestin des poissons d'eau douce, même en eau très polluée, où sa nourriture habituelle est souillée de nombreux germes.* »



Ajoutons que, comme pour les poissons marins, nous avons cherché à mettre en évidence la destruction du bacille coli dans le tube digestif du poisson d'eau douce.

Pour cela, nous avons fait ingérer, de gré ou de force, à différents poissons (gardons, ablettes, tanches, etc.) de la mie de pain trempée et malaxée dans un bouillon de culture pure de bacille coli âgée de 24 et 48 heures. Nous avons ensuite procédé à la recherche du bacille coli dans le tube digestif par nos méthodes habituelles. Les expériences montrent, quand le sujet résiste suffisamment à ce repas d'épreuve :

- 1° qu'on retrouve toujours le bacille coli une heure après l'ingestion;
- 2° qu'on le retrouve le plus souvent après 2 heures;
- 3° qu'on le retrouve rarement après 3 heures;
- 4° que, sauf exceptions, on ne le retrouve plus après 4 heures.

Ici encore nos résultats sont à peu près identiques à ceux qu'on puise dans le travail de Montin.

Nous avons aussi essayé de faire de l'extrait intestinal de poisson d'eau douce pour étudier son action bactéricide sur le bacille coli. Nous avons notamment préparé des autolysats, dans l'eau douce, d'intestins coupés en fragments, sous

toluène, 24 et 48 heures, à 27° et 35°. Ces liquides, filtrés, ne sont ni antiseptiques ni infertilisants vis-à-vis des cultures de bacille coli.

Nous avons encore procédé d'une autre façon, exactement comme nous l'avions fait pour les poissons marins. Nous avons fait tomber dans des ballons contenant des cultures de bacille coli des tronçons d'intestins de poissons d'eau douce. Nous avons fait varier la quantité de ces fragments d'intestins ainsi que le temps de contact. Par comparaison avec des ballons-témoins, nous n'avons constaté aucune action antiseptique.

Parallèlement, ayant placé dans des ballons d'eau peptonée des poids différents de tronçons d'intestins de poissons d'eau douce et ayantensemencé ensuite le bacille coli, nous n'avons pas constaté, vu les ballons-témoins, de pouvoir infertilisant, et, là encore, nous avons fait varier la durée de contact.

Il semblerait donc que les cultures de bacille coli sont indifférentes aux intestins de poissons d'eau douce.

CONCLUSIONS :

1° Le bacille coli ne se trouve qu'exceptionnellement dans le contenu intestinal des poissons d'eau douce;

2° Le bacille coli est rapidement détruit dans le tube digestif des poissons d'eau douce.

VERS D'EAU DOUCE

(HIRUDINÉES.)

Recherche du bacille coli dans le contenu intestinal des sangsues.

Nous avons procédé, avec nos précautions et notre technique habituelles, à la recherche du bacille coli dans le contenu intestinal de 3 grosses sangsues médicinales (*Hirudo medicinalis*) vivant dans une même tourbe humide depuis 1 mois.

Une quantité infime de cette tourbe, prise avec une spatule stérile,ensemencée en eau peptonée et en eau peptonée phéniquée, a donné rapidement une culture abondante où foisonne le bacille coli.

Les examens microscopiques et les cultures du contenu intestinal des sangsues en eau peptonée, eau peptonée phéniquée et sur notre milieu solide n'ont pas montré de bacille coli.

CONCLUSION :

Les 3 sangsues examinées ne présentent pas de bacille coli dans leur intestin.

IV

ANIMAUX A LA FOIS D'EAU DOUCE ET TERRESTRES

Recherche du bacille coli dans le contenu intestinal des animaux à la fois d'eau douce et terrestres.

Nous avons examiné des reptiles et des batraciens.

1° Reptiles.

Nous avons pu nous procurer 2 tortues palustres (*Cistudo Europea*) capturées sur les bords du lac de Cazaux.

Les contenus intestinaux de ces deux tortues ont été prélevés suivant notre technique habituelle. Ensemencés sur eau peptonée, sur eau peptonée phéniquée et sur notre milieu solide, nous avons obtenu partout et rapidement des cultures où foisonnait le bacille coli.

2° Batraciens.

Nous avons prélevé et examiné, avec les précautions déjà maintes fois exposées, le contenu intestinal de grenouilles de provenance différente.

8 individus ont été examinés : ils nous ont donné 8 résultats nettement positifs quant à la présence du bacille coli dans leur contenu intestinal.

CONCLUSION :

Présence du bacille coli chez les 2 tortues et les 8 grenouilles que nous avons examinées.

V

ANIMAUX TERRESTRES

Recnerche du bacille coli dans le contenu intestinal des animaux terrestres.

Nous n'exposerons pas ici par le menu les recherches du bacille coli que nous avons faites sur le contenu intestinal des animaux terrestres.

Qu'il nous suffise de dire que toutes les recherches auxquelles nous avons procédé chez les animaux terrestres appartenant à la classe des mammifères, des reptiles, des gastéropodes, des chétopodes (plus précisément des lombricidés), nous ont donné, sans exception, des résultats fortement positifs quant à la présence du bacille coli dans leur intestin.

Il en va autrement avec la classe des insectes, si importante par le nombre des espèces qu'elle comprend.

Bien entendu, nous considérons comme animaux terrestres, et non comme animaux aériens, tous les insectes. Leurs ailes ne peuvent, en effet, leur donner qu'un vol lourd et peu soutenu, et, sauf quand ils sont emportés par les vents, ils ne peuvent parcourir que des distances restreintes : ils sont ainsi étroitement liés à la terre, et, au point de vue qui nous intéresse, on doit par conséquent les associer aux animaux terrestres proprement dits.

Les examens que nous avons faits sur les insectes nous ont donné des résultats contradictoires.

1° Insectes à l'état adulte.

Dans la presque totalité des cas, les résultats ont été positifs.

Nous avons notamment examiné le contenu intestinal de 8 hannetons.

Un seul nous a donné un résultat négatif quant à la présence du bacille coli dans son intestin. Les contenus intestinaux des 7 autres ont donné des résultats positifs.

Par ailleurs, nous avons enfermé 30 hannetons dans autant de boîtes de Pétri stériles.

Après un séjour de 48 heures, on constate les nombreuses « crottes » expulsées par les hannetons.

Assurément, nous ne sommes pas dans des conditions rigoureuses d'asepsie, étant donné que le corps et les pattes des hannetons peuvent être souillés et porteurs de bacille coli.

Mais, malgré ces imperfections, difficiles à éviter pour recueillir la matière fécale, nos recherches, portant sur 30 individus, ne nous semblent pas complètement sans valeur, vu les résultats strictement identiques.

Toutes les crottes, prélevées une à une avec une pince flambée et introduites chacune dans un ballon contenant de l'eau peptonée à 3 p. 100, donnent de fortes cultures de bacille coli après un séjour à l'étuve de moins de 20 heures. Tous les bouillons sont nettement troubles. Ils donnent tous une réaction de l'indol fortement positive. Les examens microscopiques montrent tous des bacilles très mobiles, ne prenant pas le Gram.

2° Insectes à l'état larvaire.

Nous avons examiné 10 larves de hannetons (la plupart de belle grosseur) au point de vue de la présence du bacille coli dans le tube digestif.

PRÉLÈVEMENTS. — Chaque larve a été épinglée sur une plaque de liège préalablement stérilisée à l'éther.

La face ventrale étant tournée vers le haut, avec une petite spatule métallique portée au rouge, nous stérilisons les téguments en appliquant très légèrement la spatule métallique sur l'endroit où nous ferons la ponction. Avec une aiguille flambée, cet endroit est ensuite percé, et, par ce trou, une pipette Pasteur effilée, stérile, est aussitôt enfoncée dans l'intestin. Nous recueillons par aspiration un peu de matière brunâtre, qui est immédiatement ensemencée dans un ballon d'eau peptonée à 3 p. 100.

CULTURES. — Les 10 ensemencements sont portés à l'étuve.

RÉSULTATS. — Au bout de 24 heures, les 10 ballons présentent un bouillon trouble.

Les examens microscopiques des cultures à l'état frais, entre lame et lamelle, montrent tous des bacilles nombreux, dont quelques-uns longs, droits, filamenteux, et d'autres très mobiles.

Les examens microscopiques, après coloration au Gram, montrent que tous les bacilles prennent fortement le Gram.

D'autre part, aucun des bouillons ne donne la réaction de l'indol.

Après 48 heures de séjour à l'étuve, les bouillons examinés donnent les mêmes résultats, résultats négatifs quant au bacille coli, confirmés par les cultures sur notre milieu solide.

CONCLUSION :

Les larves des hannetons que nous avons examinées ne présentent pas de bacille coli dans leur intestin.

EXAMENS MICROSCOPIQUES DIRECTS DE LA MATIÈRE FÉCALE RETIRÉE DES LARVES.

Une goutte de matière retirée de l'intestin de la larve est examinée à l'état frais entre lame et lamelle.

Cet examen montre une grande quantité de micro-orga-

nismes : des bacilles très mobiles, longs; des coccobacilles présentant une spore terminale; quelques bacilles avec une spore (forme de clou); des cocci; de très abondants flagellés, ronds, extrêmement mobiles; des corpuscules ronds, de la grosseur d'un leucocyte, se déplaçant par rotation hélicoïdale, et simulant des amibes.

Après coloration au Gram, l'examen montre que la presque totalité des micro-organismes prennent le Gram. A différentes reprises, nous avons cependant vu des bacilles courts (mais beaucoup plus larges que le bacille coli type), qui ne prennent pas le Gram.

Autres expériences.

Nous avons multiplié les recherches sur les larves d'insectes. Notamment, nous avons examiné de nombreuses larves de diptères. Nous n'avons trouvé le bacille coli que sur 1 individu par 12 à 15 examinés.

A ce sujet, notons que Montin, étudiant l'influence des appâts sur la présence possible du bacille coli chez les poissons d'eau douce, signale qu'ayant obtenu de 20 pêcheurs autant d'échantillons d'asticots, il a sectionné et écrasé ces larves avec des instruments stériles et les aensemencés dans l'eau peptonée : sur les 20 bouillons, un seul renfermait du bacille coli.

Il semble donc que certains insectes à l'état larvaire — alors même que les larves, comme celles du hanneton, vivent dans la terre — ne contiennent pas de bacille coli.

CONCLUSION :

Hors certains insectes à l'état larvaire, dont le tube digestif ne contenait pas de bacille coli, l'intestin de tous les animaux terrestres que nous avons examinés renfermait du bacille coli.

VI

ANIMAUX AERIENS

Recherche du bacille coli dans l'intestin des animaux aériens.

Disons tout de suite que tous les oiseaux, sans exception, que nous avons examinés ont donné des résultats positifs quant à la présence du bacille coli dans leur intestin. Nous avons fait 45 examens, concernant des oiseaux appartenant aux ordres principaux — sauf les rapaces — du groupe des carinates : passereaux (moineau, *passer*; geai, *garrulus*; serin, *serinus*); grimpeurs (pics, *picus*); perroquets (perruches, *conurus*); colomblins (pigeons, *columba*; tourterelle, *turtur*); gallinacés (poules, *gallus*; cailles, *coturnix*); échassiers (bécasses, *scolopax*; héron, *ardea*); palmipèdes (canard, *anas*, *fulix*; oies, *anser*), et les oiseaux océaniques, dont nous parlons plus loin.

Prélevés suivant notre technique habituelle etensemencés sur eau peptonée, sur eau peptonée phéniquée et sur notre milieu solide, *les contenus intestinaux de ces différents oiseaux nous ont rapidement donné des cultures abondantes où foisonnait le bacille coli.*

Oiseaux océaniques.

Etant données nos recherches du bacille coli dans l'intestin des animaux marins constamment négatives, nous avons pensé qu'il n'était pas sans intérêt de contrôler la présence du bacille coli dans l'intestin des oiseaux océaniques.

Ces oiseaux, en effet, se nourrissent presque exclusive-

ment d'animaux marins. Comme les poissons, crustacés, etc., ils déglutissent en même temps une certaine quantité d'eau de mer. De plus, comme tous les palmipèdes, ce sont des oiseaux nageurs, mais dont les ailes et la queue, très longues, si elles leur permettent un vol extrêmement puissant, contribuent à leur rendre difficile la marche sur le sol. Certains même, comme les pétrels (*procellaria*) et les guillemots (*uria*), que nous avons examinés, ne sont pas du tout adaptés à la locomotion terrestre : ce n'est qu'exceptionnellement qu'ils se posent sur les rochers des côtes.

Nos recherches portent sur 4 grands goélands (*larus*), 2 pétrels (*procellaria*) et 2 guillemots (*uria*). Nous avons choisi ces sujets, entre autres, parce que le plomb les avait atteints soit à la tête, soit au cou, soit aux ailes. Il importe, en effet, de trouver à l'autopsie un corps dont les viscères, et notamment l'appareil digestif, soient absolument indemnes.

Nos prélèvements ont été opérés dans l'intestin, d'une façon rigoureusement aseptique et suivant notre procédé habituel. A noter qu'aucun des 8 sujets n'a été examiné plus de 3 heures après avoir été abattu.

La recherche et l'identification du bacille coli ont été faites par les méthodes classiques et aussi au moyen de notre milieu solide.

Nous avons trouvé le bacille coli dans l'intestin des 8 oiseaux examinés.

Résultats toujours très nets, positifs sur tous les milieux à réactions biochimiques, et l'examen microscopique des cultures en eau peptonée simple a constamment montré que, s'il se trouve dans le contenu intestinal des bacilles variés, c'est le bacille coli qui domine, et de beaucoup, par le nombre.

CONCLUSION :

Alors que chez les *animaux marins* que nous avons déjà examinés, mammifères, poissons, céphalopodes, lamelli-

branches, crustacés, vers, nous n'avons jamais trouvé de bacille coli dans le contenu intestinal, chez les oiseaux océaniques, au contraire, le bacille coli est bien, comme chez les autres oiseaux, l'hôte normal de l'intestin.

TABLEAU X

Résumé de nos recherches du bacille coli dans le contenu intestinal des oiseaux.

GROUPE	NOM DE L'ESPECE	NOMBRE de sujets examinés	HABITAT	PRÉSENCE (+) ou absence (—) du bacille coli
Passereaux ..	Moineau (<i>Passer</i>)	2	Aérien.	++
	Geai (<i>Garrulus</i>)	1	»	+
	Serin (<i>Serinus</i>)	1	»	+
Grimpeurs ..	Pic (<i>Picus</i>)	1	»	+
Perroquets ..	Perruches (<i>Conurus</i>)	2	»	++
Colombins ..	Pigeon (<i>Colomba</i>)	3	»	+++
	Tourterelle (<i>Turtur</i>)	1	»	+
Gallinacées ..	Poules (<i>Gallus domesticus</i>)	3	Terre.	+++
	Caille (<i>Coturnix</i>)	1	»	+
Echassiers ..	Bécasses (<i>Scolopax</i>)	2	Marais.	++
	Héron (<i>Ardea</i>)	1	»	+
Palmipèdes.	Canard (<i>Anas</i>)	2	»	++
	(<i>Fulix</i>)	1	»	+
	Oie (<i>Ancer</i>)	1	»	+
	Goëlands (<i>Larus</i>)	4	Océan.	+++
	Petrels (<i>Procellaria</i>)	2	»	++
	Guillemots (<i>Uria</i>)	2	»	++
7 groupes.	16 espèces.	30 sujets.		

Présence du bacille coli dans le contenu intestinal de tous les sujets examinés.

TABLEAU XI

Résumé de nos recherches du bacille coli dans le contenu intestinal des animaux.

HABITAT	CLASSE	ESPECES	NOMBRE de sujets exa- minés	PRÉSENCE (+) ou absence (—) du bacille coli
Eau de mer	Mammifères..	Marsouins (<i>Phocaena</i>)	9	—
	Poissons ...	23 espèces (V. tableau V)	302	—
	Céphalopodes	Seiches (<i>Sepia officinalis</i>)	14	—
	Lamellibranches	Huîtres (<i>Gryphæa angulata</i>) ..	18	—
	Crustacés ..	Crabes (<i>Carcinus mænas</i>)	8	—
		Araignées de mer (<i>Maia squin.</i>)..	13	—
		Tourteaux (<i>Cancer pagurus</i>) ..	4	—
Eau de mer et eau douce.	Vers	Siponcles (<i>Sipunculus nudus</i>)..	2	—
	Poissons ...	Saumons (<i>Salmo salar</i>)	2	—
		Aloses (<i>Alausa vulgaris</i>)	30	—
Eau douce.		Goujons (<i>Gobio fluviatilis</i>)	53	52 — et 1 +
	Poissons ...	Brochets (<i>Esox lucius</i>)	12	—
		Carpes (<i>Carpus carpio</i>)	5	—
		Anguilles (<i>Anguilla vulgaris</i>)..	5	4 — et 1 +
		Tanches (<i>Tinca vulgaris</i>)	5	4 — et 1 +
		Gardons (<i>Leuciscus rutilus</i>) ..	4	—
		Ablettes (<i>Alburnus lucidus</i>) ..	8	—
		Vairons (<i>Phoxynus lævis</i>)	4	—
		Goujons (<i>Gobio fluviatilis</i>)	5	—
		Barbeau (<i>Barbus fluviatilis</i>) ..	1	—
		Cyprins (<i>Carassius auratus</i>) ..	6	—
		Sangsues (<i>Hirudo medecin.</i>) ..	3	—
	Hirudinées ..			
	Reptiles ...	Tortue palus. (<i>Cistudo cur.</i>)..	2	+
	Batraciens ..	Grenouilles (<i>Rana viridis</i>)	8	+
	Chétopodes ..	Ver de terre (<i>Lumbricus ter.</i>)..	2	+
	Insectes	Hannetons (<i>Melolontha</i>)	38	1 — et 37 +
Terre		Larves de hannetons	10	—
		Larves de diptères	52	48 — et 4 +
	Gastéropodes	Limaces rouges (<i>Arion rufus</i>)..	2	+
	Reptiles	Tortues terrestres (<i>Testudo G.</i>)..	2	+
		Lézards (<i>Lacerta viridis</i>)	2	+
	Mammifères.	Taupes (<i>Talpa europea</i>)	1	+
		Hérissons (<i>Erinaceus europeus</i>)..	1	+
		Chiens (<i>Canis familiaris</i>)	1	+
		Chats (<i>Felis domesticus</i>)	2	+
		Rats (<i>Mus decumanus</i>)	2	+
		Souris (<i>Mus musculus</i>)	2	+
		Moutons (<i>Ovis aries</i>)	1	+
		Vache (<i>Bos taurus</i>)	1	+
		Porc (<i>Sus domesticus</i>)	1	+
		Cheval (<i>Equus caballus</i>)	1	+
Air	Oiseaux	Moineau (<i>Passer</i>)	2	+
		Geai (<i>Garrulus</i>)	1	+
		Serin (<i>Serinus</i>)	1	+
		Pic (<i>Picus</i>)	1	+
		Perruche (<i>Conurus</i>)	2	+
		Pigeon (<i>Columba</i>)	3	+
		Tourterelle (<i>Turtur</i>)	1	+
		Poule (<i>Gallus domesticus</i>)	3	+
		Caille (<i>Coturnix</i>)	1	+
		Bécasse (<i>Scolopax</i>)	2	+
		Héron (<i>Ardea</i>)	1	+
		Canards (<i>Anas fulix</i>)	3	+
		Oie (<i>Anser</i>)	1	+
		Goéland (<i>Larus</i>)	4	+
		Pétrel (<i>Procellaria</i>)	2	+
		Guillemot (<i>Uria</i>)	2	+

Soit 80 espèces comprenant 674 sujets examinés.

CONCLUSIONS GENERALES DE NOS RECHERCHES DU BACILLE COLI DANS LE CONTENU INTESTINAL DES ANIMAUX

Bien que forcément incomplètes, nos recherches personnelles sur différentes catégories d'animaux :

1° montrent que l'opinion classique, suivant laquelle « le coli bacille existe normalement dans les matières fécales de tous les êtres aquatiques et terrestres », est à reviser;

2° précisent nos idées sur les catégories d'animaux dont le tube digestif contient ou ne contient pas de bacille coli;

3° semblent indiquer que tous les animaux vivant uniquement dans l'eau (eau de mer ou eau douce) ont, du point de vue bacille coli, un caractère de convergence qu'on ne soupçonnait pas.

TABLEAU XII

Résumé de nos recherches.

Bacille coli et contenu intestinal des animaux.

ANIMAUX strictement marins	ANIMAUX d'eau douce	ANIMAUX à la fois marins et d'eau douce	ANIMAUX à la fois d'eau douce et terrestres	ANIMAUX terrestres	ANIMAUX aériens
toujours	sauf rares exceptions	sauf très rares exceptions	toujours	sauf certains insectes à l'état larvaire toujours	toujours
<i>négatif</i>	<i>négatif</i>	<i>négatif</i>	<i>positif</i>	<i>positif</i>	<i>positif</i>

TROISIÈME PARTIE

ACTION DE SUBSTANCES DIVERSES
SUR LES CULTURES DE BACILLE COLI

ACTION DE SUBSTANCES DIVERSES SUR LES CULTURES DE BACILLE COLI

L'action des plantes odoriférantes et de leurs essences sur l'évolution des maladies, leur utilisation comme cicatrisants et antiputrides, ont fait l'objet d'observations et de recherches qui remontent à la plus haute antiquité.

Il y a quatre mille ans, les Egyptiens, à l'aide de résines, de poudres aromatiques, d'essences pures, savaient admirablement embaumer leurs morts, ainsi qu'en témoignent les momies qu'on a découvertes parfaitement conservées. Leurs prêtres préparaient, non seulement les essences et aromates destinés au culte, mais aussi les remèdes de toutes sortes, où entraient, pour une large part, des herbes fraîchement pilées et des gommés végétales d'origines diverses.

On a continué et l'on continue toujours à utiliser les plantes sous des formes nombreuses et variées. Les unes servent à panser plaies et contusions. D'autres sont destinées à être absorbées sous formes d'infusion, de décoction, de macération, en vue de défendre l'organisme et de lutter contre la maladie. D'autres encore sont employées sous forme d'essences pour guérir ou même pour prévenir certaines affections de nature microbienne. C'est ainsi qu'il est de mode aujourd'hui, en période d'épidémie, de grippe par exemple, de respirer les vapeurs de certaines essences (essence de niaouli, de thym, d'eucalyptus, etc.), afin de se préserver de la contagion. C'est ce qu'on faisait déjà vers l'an 1400. A cette époque, où essences et produits balsamiques étaient en honneur et vigueur, les médecins conseillaient, pour se défendre des épidémies et notamment de la peste, de porter une cagoule à laquelle était fixé un long nez en bec d'oiseau rempli de parfums ou d'essences.

Ainsi connaissait-on et utilisait-on depuis fort longtemps

les vertus préventives et curatives des essences et de certaines plantes ou parties de plantes.

Mais ce n'est guère que vers 1875, avec les travaux de Dorpat, puis de Bucholtz, que commença l'étude rationnelle des propriétés antiseptiques des plantes et des substances qu'on peut en retirer. En 1881, Nicolaï, Jean de la Tour, Robert Koch, multiplient les recherches et les expériences. Miquel en 1883, Chamberland en 1887, publient des travaux sur l'action antiseptique des huiles essentielles (eucalyptus, girofle, thym, origan, cannelle, angélique, géranium, etc.). En 1889, Cadéac et Meunier complètent les données déjà acquises, et les essences, sous l'influence du Professeur Bouchard, entrent définitivement dans la thérapeutique courante.

Depuis 30 ans, les travaux concernant le pouvoir microbicide des essences et des plantes aromatiques ont été nombreux. Parmi les plus récents, il convient de citer ceux de MM. les Professeurs Morel et Rochaix, de la Faculté de médecine de Lyon, qui ont apporté sur ce sujet une forte contribution à nos connaissances.

On peut donc dire qu'à l'heure actuelle, en ce qui touche leur pouvoir antiseptique, la plus grande partie des essences et des plantes ont été l'objet de recherches diverses.

Cependant, l'étude de certaines d'entre elles a donné lieu à des conclusions différentes, parfois contradictoires, concernant leur action sur le bacille coli.

Nous commencerons donc par examiner successivement l'action de l'ail, du tabac à fumer et du jus de citron sur les cultures de bacille coli, et nous essayerons de déterminer, le cas échéant, leur pouvoir antiseptique et infertilisant.

Puis, toujours par rapport aux cultures de bacille coli, nous ferons, avec l'étude de l'essence de moutarde, chimiquement connue sous le nom d'isosulfocyanate d'allyle, l'étude d'autres isosulfocyanates. Enfin, sur ces mêmes cultures, nous expérimenterons l'acide monobromacétique et quelques bromacétates et chloracétates organiques.

ACTION DE L'AIL SUR LES CULTURES DE BACILLE COLI ET LES CULTURES DE BACILLE TYPHIQUE

I. — *Action de l'ail sur la culture de bacille coli.*

Dans la plante fraîche, les bulbes, seuls, ont été utilisés.

Ils furent épluchés, coupés en menus morceaux, pesés et répartis en 4 ballons d'eau peptonée simple à raison de 1 gramme, 5 grammes, 10 grammes et 15 grammes.

Le tout, plus un ballon-témoin, a été stérilisé à 105° pendant 1/2 heure. Chaque bouillon fut ensuiteensemencé avec une trace de culture pure de bacille coli de l'Institut Pasteur.

Donc, le 21 avril 1932, ensemencements :

Ballon témoin : eau peptonée 100 cc. + culture pure

B. coli I. P.;

2^e ballon : eau peptonée 100 cc. + 1 g. ail + culture pure B. coli I. P.;

3^e ballon : eau peptonée 100 cc. + 5 g. ail + culture pure B. coli I. P.;

4^e ballon : eau peptonée 100 cc. + 10 g. ail + culture pure B. coli I. P.;

5^e ballon : eau peptonée 100 cc. + 15 g. ail + culture pure B. coli I. P.;

Mise à l'étuve à 36°.

Le 22 avril 1932, premiers résultats :

Ballon témoin : aspect très trouble; réaction de l'indol fortement positive;

2^e ballon : aspect très trouble; réaction de l'indol fortement positive;

- 3^e ballon : aspect louche; réaction de l'indol négative;
- 4^e ballon : aspect louche; réaction de l'indol négative;
- 5^e ballon : aspect clair; réaction de l'indol négative;

Immédiatement après les essais de recherche de l'indol, tous les ballons ont été remis à l'étuve à 36°.

Le 23 avril 1932, seconds résultats :

- Ballon témoin : aspect très trouble; recherche indol très fortement positive;
- 2^e ballon : aspect très trouble; recherche indol très fortement positive;
- 3^e ballon : aspect trouble; recherche indol fortement positive;
- 4^e ballon : aspect trouble; recherche indol positive;
- 5^e ballon : aspect louche; recherche indol faiblement positive.

A noter que la teneur en indol décroît dans les bouillons à mesure que la quantité de l'ail incorporée est plus forte : en effet, la coloration des tubes de recherche de l'indol a diminué nettement et graduellement de 1 gramme à 15 grammes d'ail, et nos différents tubes nous offrent une gamme de couleurs du rouge vif au rose pâle.

Ce même jour, repiquage de ces 5 bouillons troubles ayant donné de l'indol sur gélose lactosée tournesolée.

Le 25 avril 1932, troisièmes résultats :

- Ballon témoin : forte fermentation et virage au rose très net;
- 2^e ballon : forte fermentation et virage au rose très net;
- 3^e ballon : forte fermentation et virage au rose très net;
- 4^e ballon : forte fermentation et virage au rose très net;
- 5^e ballon : forte fermentation et virage au rose très net.

L'aspect macroscopique de la culture dans les 5 tubes d'essai a été identique : fortes bulles divisant le milieu, légères bulles venant crever à la surface. Couleur générale : rose vif très net.

II. — *Action de l'ail sur la culture du bacille typhique.*

Nous avons exactement renouvelé la même expérimentation.

Dans 4 ballons contenant 100 cc. d'eau peptonée simple, nous avons introduit respectivement 1 gramme, 5 grammes, 10 grammes et 15 grammes de bulbe d'ail frais, épluché et coupé en menus morceaux.

Ces 4 ballons et 1 ballon témoin ont été ensuite stérilisés à 105° pendant 30 minutes.

Le 26 avril 1932 :

Ensemencement de ces 4 ballons et du ballon témoin avec une trace de culture de bacille typhique de l'Institut Pasteur sur gélose simple.

Le tout a été porté à l'étuve à 37° pendant 24 heures.

Le 27 avril 1932 :

Ballon témoin : nettement trouble;

Ballon ail 1 gramme : nettement trouble;

Ballon ail 5 grammes : nettement trouble;

Ballon ail 10 grammes : nettement trouble;

Ballon ail 15 grammes : nettement trouble.

L'examen microscopique direct entre lame et lamelle des cultures des 5 ballons a montré des bacilles nettement mobiles, donnant l'impression dans les 5 essais d'une égale et belle vitalité.

La réaction de l'indol dans les 5 cultures a été négative.

Ce même jour, repiquage des 5 cultures sur gélose au plomb pour l'épreuve-contrôle de noircissement.

Le 29 avril 1932 :

Résultats également positifs pour les 5 cultures.

CONCLUSION :

a) Aux doses où nous l'avons employé et suivant notre manière d'opérer, l'ail est indifférent aux cultures de bacille typhique.

b) Aux mêmes doses et suivant le même *modus operandi*, l'ail tend à retarder la culture du bacille coli (5 grammes d'ail retardent la culture de 24 heures, ainsi qu'il apparaît dans les premiers résultats constatés le 22 avril 1932), et cette culture se fait d'autant moins bien et le bacille coli a un pouvoir indologène d'autant moins grand qu'il y a davantage d'ail (V. seconds résultats du 23 avril 1932).

c) Le bacille coli est donc beaucoup plus sensible à l'action de l'ail que le bacille typhique.

Or, depuis près d'un demi-siècle, l'observation et l'expérimentation ont toujours mis en évidence un fait : la résistance considérable du bacille coli comparativement à celle du bacille typhique. A titre d'exemple, et pour ne citer entre cent autres que la plus récente expérience que nous connaissions, MM. A. Morel, A. Rochaix et C. Mathais ont montré à la Société de biologie de Lyon (séance du 16 nov. 1931) que le bacille d'Eberth ne saurait pousser dans un bouillon peptoné renfermant 0 g. 55 de toluène pour 1.000 cc., tandis que le bacille coli y pousse jusqu'à une dose de 3 grammes pour 1.000 cc.

Si l'ail devait avoir une action sur les bacilles coliformes, il était donc à priori naturel et légitime de penser que cette action serait plus puissante et plus complète vis-à-vis du bacille typhique que vis-à-vis du bacille coli. Or, c'est l'inverse qui a eu lieu : le bacille coli, bacille à vitalité exceptionnelle, se trouve, dans le cas particulier que nous avons exposé, plus sensible que le bacille typhique.

TABLEAU XIII
Action de l'ail sur les cultures de bacille coli.

100 cc. eau peptonée N° du ballon	TENEUR en ail en grammes.	CULTURE après 48 heures en eau peptonée à 30 p. 1000	RÉACTION de l'indol	CULTURE sur gélose lactosée
1	0	+	+	+
2	1	+	+	+
3	5	+	+	+
4	10	+	+	+
5	15	+	+	+

TABLEAU XIV

Action de l'ail sur les cultures de bacille typhique.

100 cc. eau peptonée N° du ballon	TENEUR en ail en grammes	CULTURE après 48 heures en eau peptonée à 30 p. 1000	RÉACTION de l'indol	CULTURE sur gelose au plomb
1	0	+	—	+
2	1	+	—	+
3	5	+	—	+
4	10	+	—	+
5	15	+	—	+

ACTION DU TABAC A FUMER SUR LES CULTURES DE BACILLE COLI ET SUR LES CULTURES DE BACILLE TYPHIQUE

Il s'agit du tabac qui sort des manufactures de l'Etat, en France, par paquets de 40 grammes, sous le nom de « scaferlati ordinaire », et qui est vulgairement appelé « tabac gris ».

I. — *Bacille coli*.

1° Recherche du pouvoir infertilisant.

Dans 5 ballons contenant chacun de l'eau peptonée simple à 30 %, nous introduisons du tabac coupé en menus fragments, à raison, respectivement, de 1 gramme, 5 grammes, 10 grammes, 15 grammes et 20 grammes.

Nous avons :

Ballon 1 : 50 cc. eau peptonée + 1 g. tabac.

Ballon 2 : 50 cc. eau peptonée + 5 g. tabac.

Ballon 3 : 50 cc. eau peptonée + 10 g. tabac.

Ballon 4 : 100 cc. eau peptonée + 15 g. tabac.

Ballon 5 : 100 cc. eau peptonée + 20 g. tabac.

Ces différents ballons et un ballon témoin contenant 50 cc. d'eau peptonée simple sont portés à l'autoclave et stérilisés à 115° pendant 20 minutes.

Dans chacun de ces 6 ballons stériles, nous introduisons une « anse » de suspension de bacille coli dans l'eau stérile.

Mise à l'étuve à 37°.

RÉSULTATS :

a) Après 24 heures de séjour à l'étuve :

	<i>Culture.</i>	<i>Réaction de l'indol.</i>
Ballon témoin	—	—
Ballon 1.....	nette	fortement positive
Ballon 2.....	nette	positive
Ballon 3.....	nette	faiblement positive
Ballon 4.....	douteuse	douteuse
Ballon 5.....	douteuse	nulle
Ballon 6.....	douteuse	nulle

b) Après 48 heures de séjour à l'étuve :

Les 6 cultures donnent la réaction de l'indol, qui est d'autant plus faible que le poids du tabac en présence est plus fort.

La culture du bacille coli est vérifiée après ensemencement sur gélose lactosée tournesolée, qui, après 24 heures d'étuve, donne une fermentation très nette et, macroscopiquement, à peu près identique pour les 6 cultures.

Ajoutons que l'examen microscopique de chacune des 6 cultures sur gélose lactosée tournesolée montre partout un bacille coli d'une égale et belle vitalité.

PREMIÈRE CONCLUSION. — Le tabac que nous employons n'a pas de pouvoir infertilisant vis-à-vis des cultures de bacille coli.

2° Recherche du pouvoir antiseptique.

Nous ensemençons 2 ballons contenant chacun 200 cc. d'eau peptonée simple avec une trace de culture pure de bacille coli.

Au bout de 24 heures de séjour à l'étuve à 37°, nous constatons dans chacun de nos 2 ballons une culture qui donne une réaction de l'indol très nette.

Nous ajoutons à une de ces cultures en évolution 10 grammes de tabac coupé en petits morceaux, l'autre culture restant comme témoin.

Après agitation, nous laissons le tabac en contact pendant

une heure, et, ce temps écoulé, nous ensemençons sur gélose simple (repiquage n° 1). Après 5 heures de contact, nouveau repiquage (n° 2). Après 10 heures de contact, nouveau repiquage (n° 3).

L'examen des différents repiquages est fait 16 heures après. Nous constatons que toutes les géloses ont parfaitement cultivé; toutefois, la culture n° 3, un peu moins abondante que les deux autres, se présente en colonies isolées, bien que ces colonies aient très bien poussé.

Quant à la culture témoin, repiquée exactement aux mêmes heures que l'autre, elle nous a donné sur gélose, 16 heures après, des cultures abondantes, sans colonies isolées.

DEUXIÈME CONCLUSION. — Le tabac que nous employons n'a pas de pouvoir antiseptique vis-à-vis des cultures de bacille coli

II. — *Bacille typhique.*

1° Recherche du pouvoir infertilisant.

Comme précédemment, nous introduisons respectivement 1 gramme, 5 grammes, 10 grammes et 15 grammes de tabac dans 4 ballons contenant de l'eau peptonée simple à 30 %.

Ces 4 ballons et 1 ballon témoin contenant 50 cc. d'eau peptonée simple sont stérilisés à 115° pendant 20 minutes.

Ils sont ensuite ensemencés avec une trace de culture de bacille typhique prélevée dans une souche de l'Institut Pasteur de Paris.

Mise à l'étuve à 37°.

RÉSULTATS. — Au bout de 24 heures de séjour à l'étuve, l'examen entre lame et lamelle de chacune des cultures montre, pour les 5 ballons, des bacilles très mobiles et de belle vitalité.

Comme contrôle, un repiquage de chacune des 5 cultures étant fait sur gélose au plomb, on constate, après 24 heures d'étuve, que toutes les cultures ont poussé et ont noirci.

TROISIÈME CONCLUSION. — Le tabac que nous employons n'a pas de pouvoir infertilisant vis-à-vis des cultures de bacille typhique.

2° Recherche du pouvoir antiseptique.

Nous répétons les mêmes expériences que nous avons faites avec le bacille coli.

Deux ballons identiques nous offrent chacun une même culture de bacille typhique au même point d'évolution.

Nous ajoutons à l'un de ces ballons 10 grammes de tabac, l'autre servant de ballon-témoin.

Après une heure de contact, premier repiquage sur gélose. Après 3 heures, puis 10 heures après, deuxième et troisième repiquages.

La culture témoin est repiquée sur gélose exactement aux mêmes heures.

RÉSULTATS. — On constate, 18 heures après, que les 3 repiquages du bouillon-tabac ont parfaitement poussé; néanmoins, les colonies forment des îlots isolés et sont un peu moins abondantes dans les géloses n° 2 et n° 3.

La culture témoin a donné sur gélose, dans les mêmes conditions et dans le même temps, des cultures abondantes et sans colonies isolées.

QUATRIÈME CONCLUSION. — Le tabac que nous employons n'a pas de pouvoir antiseptique vis-à-vis des cultures de bacille typhique.

CONCLUSION GÉNÉRALE :

Le tabac à fumer est indifférent aux cultures de bacille coli et aux cultures de bacille typhique.

TABLEAU XV

1° Pouvoir infertilisant du tabac à fumer
sur les cultures de bacille coli.

100 cc. eau peptonée N° du ballon	TENEUR en tabac (en grammes)	CULTURE après 48 heures en eau peptonée à 30 p. 1000	RÉACTION de l'indol	CULTURES sur gélose lactosée tournesolée
1	0	+	+	+
2	1	+	+	+
3	5	+	+	+
4	10	+	+	+
5	15	+	+	+
6	20	+	+	+

Pas de pouvoir infertilisant.

2° Pouvoir antiseptique du tabac à fumer
sur les cultures de bacille coli.

Pas de pouvoir antiseptique.

TABLEAU XVI

1° Pouvoir infertilisant du tabac à fumer
sur les cultures de bacille typhique.

100 cc. eau peptonée N° du ballon	TENEUR en tabac (en grammes)	CULTURE après 48 heures en eau peptonée à 30 p. 1000	RÉACTION de l'indol	CULTURE sur gélose au plomb
1	0	+	—	+
2	1	+	—	+
3	5	+	—	+
4	10	+	—	+
5	15	+	—	+
6	20	+	—	+

Pas de pouvoir infertilisant.

2° Pouvoir antiseptique du tabac à fumer
sur les cultures de bacille typhique.

Pas de pouvoir antiseptique.

ACTION DU JUS DE CITRON FRAIS SUR LES CULTURES DE BACILLE COLI ET SUR LES CULTURES DE BACILLE TYPHIQUE

L'action du jus de citron frais sur le bacille coli et sur le bacille d'Eberth a déjà été étudiée.

Pour certains auteurs, le jus de citron est indifférent aux bacilles coliformes (William-G. Bissel). Pour d'autres, le jus de citron possède sur les bacilles coli et typhique une action franchement antiseptique (Riegel, H. Alliot, Charles Richet fils et André Gigou). D'autres, enfin, arrivent à des conclusions intermédiaires (Professeur J. Sabrazès).

Devant ces résultats* contradictoires, nous avons repris l'étude de ce problème en nous efforçant d'y apporter quelque clarté.

PREMIÈRE QUESTION. — Le jus de citron frais a-t-il un pouvoir infertilisant vis-à-vis :

1° des cultures de bacille coli ?

2° des cultures de bacille typhique ?

1° *Cultures de bacille coli.* — Ajoutons du jus de citron à de l'eau peptonée simple (30 ‰) ou concentrée (60 ‰) et ensemençons ensuite le bacille coli.

Ce bacille poussera-t-il ?

Le tableau ci-dessous nous l'indique :

100 cc. eau peptonée simple + 1 cc. jus de citron + coli
= culture.

100 cc. eau peptonée simple + 5 cc. jus de citron + coli
= non-culture.

50 cc. eau peptonée concentrée + 40 cc. eau stérile
+ 10 cc. jus de citron + coli = non-culture.

50 cc. eau peptonée concentrée + 25 cc. eau stérile
+ 25 cc. jus de citron + coli = non culture.

50 cc. eau peptonée concentrée + 50 cc. jus de citron
+ coli = non-culture.

100 cc. eau peptonée simple (témoin) + coli = culture.

Donc, le bacille coliensemencé dans 100 cc. d'eau peptonée contenant un volume égal ou supérieur à 5 cc. de jus de citron ne pousse pas.

2° *Cultures de bacille typhique.* — Nous répétons exactement la même série d'expériences *mutatis mutandis*, et nous faisons la même constatation que précédemment.

Le bacille typhiqueensemencé dans 100 cc. d'eau peptonée contenant un volume égal ou supérieur à 5 cc. de jus de citron ne pousse pas.

Nous concluons donc que le jus de citron possède un pouvoir infertilisant vis-à-vis des cultures de bacille coli et des cultures de bacille typhique.

DEUXIÈME QUESTION. — Détermination de ce pouvoir infertilisant vis-à-vis :

1° des cultures de bacille coli;

2° des cultures de bacille typhique.

1° *Cultures de bacille coli.* — Quel est le volume minimum de jus de citron qui, ajouté à 100 cc. d'eau peptonée, suffit à rendre impossible la culture du bacille coli ?

Là encore, le tableau suivant va nous le montrer :

100 cc. eau peptonée simple + 1 cc. jus de citron + coli
= culture.

100 cc. eau peptonée simple + 2 cc. jus de citron + coli
= culture.

100 cc. eau peptonée simple + 3 cc. jus de citron + coli
= culture.

100 cc. eau peptonée simple + 4 cc. jus de citron + coli
= non-culture.

100 cc. eau peptonée simple + 5 cc. jus de citron + coli
= non-culture.

100 cc. eau peptonée simple + coli (témoin) = culture.

D'où un volume égal ou supérieur à 4 cc. de jus de citron frais, ajouté à 100 cc. d'eau peptonée, empêche toute culture ultérieure du bacille coli.

2° *Cultures de bacille typhique.* — Nous répétons encore exactement la même série d'expériences, *mutatis mutandis*, et nous arrivons expérimentalement à cette conclusion :

Un volume égal ou supérieur à 3 cc. de jus de citron frais, ajouté à 100 cc. d'eau peptonée, empêche toute culture ultérieure du bacille typhique.

TROISIÈME QUESTION. — Le jus de citron frais a-t-il un pouvoir antiseptique vis-à-vis :

1° des cultures de bacille coli ?

2° des cultures de bacille typhique ?

1° *Cultures de bacille coli.* — Ajoutons à une culture (100 cc.) de 24 heures de bacille coli, 4 cc. de jus de citron frais.

Si nous suivons cette culture par comparaison avec une culture témoin (sans jus de citron), nous constatons que les 4 cc. de jus de citron sont indifférents à la culture du bacille coli. Qu'il y ait ou non du jus de citron, les cultures se comportent de la même façon : observations identiques, réactions et examens microscopiques du même ordre.

Au lieu de 4 cc., ajoutons à la culture 5 cc. de jus de citron frais : mêmes résultats.

Mêmes résultats avec 10 cc. pendant les 6 premières heures; après quoi, on constate que la vitalité de la culture diminue, pour être complètement arrêtée au bout de 14 heures.

Avec 20 cc., la culture est influencée plus rapidement : en moins de 3 heures, repiquée sur gélose simple, elle donne une culture beaucoup moins abondante que la culture témoin, ce qui indique que sa vitalité a notablement diminué. Après

3 heures, cette vitalité diminue de plus en plus, pour être complètement arrêtée au bout de 10 heures.

Conclusion : Vis-à-vis des cultures de bacille coli, le jus de citron frais a un pouvoir antiseptique extrêmement faible.

2° *Cultures de bacille typhique.* — Nous renouvelons les mêmes expériences avec le bacille typhique.

Par comparaison avec une culture témoin, nous constatons que 3 cc. de jus de citron frais, ajoutés à une culture (100 cc.) de 24 heures de bacille typhique, ne gênent en rien cette culture.

Mêmes constatations avec 5 cc. de jus de citron.

Avec 10 cc., la culture est influencée : en moins de 3 heures, repiquée sur gélose simple, elle donne une culture beaucoup moins abondante que la culture témoin. Après 3 heures, la vitalité de la culture diminue rapidement. Après 10 heures, elle est complètement arrêtée.

Avec 20 cc., la culture est arrêtée en moins de 3 heures (le repiquage sur gélose simple ne donne plus aucune culture).

Conclusion : Vis-à-vis des cultures de bacille typhique, le jus de citron frais a un pouvoir antiseptique faible.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES :

1° Le jus de citron frais est infertilisant vis-à-vis des cultures de bacille coli à partir de 4 %.

2° Le jus de citron frais est infertilisant vis-à-vis des cultures de bacille typhique à partir de 3 %.

3° Le jus de citron frais a un pouvoir antiseptique faible vis-à-vis des cultures de bacille typhique, et extrêmement faible vis-à-vis des cultures de bacille coli.

TABLEAU XVII

1° Pouvoir infertilisant du jus de citron frais
sur les cultures de bacille coli.

100 cc. eau peptonée N° du ballon	TENEUR en jus de citron en grammes	CULTURES en eau peptonée à 30 p. 1000	RÉACTION de l'indol	CULTURES sur gélose lactosée
1	0	+	+	+
2	1	+	+	+
3	2	+	+	+
4	3	+	+	+
5	4	—	—	—
6	5	—	—	—

Infertilisant à partir de 4 %.

2° Pouvoir antiseptique du jus de citron frais
sur les cultures de bacille coli.

Pouvoir très faible.

TABLEAU XVIII

1° Pouvoir infertilisant du jus de citron frais
sur les cultures de bacille typhique.

100 cc. eau peptonée N° du ballon	TENEUR en jus de citron en grammes	CULTURE en eau peptonée à 30 p. 1000	RÉACTION de l'indol	CULTURE sur gélose au plomb
1	0	+	—	+
2	1	+	—	+
3	2	+	—	+
4	3	—	—	—
5	4	—	—	—
6	5	—	—	—

Infertilisant à partir de 3 %.

2° Pouvoir antiseptique du jus de citron frais
sur les cultures de bacille typhique.

Pouvoir faible.

ESSENCE DE MOUTARDE

Le semence de moutarde noire (*Brassica nigra* : crucifères) est constituée par une enveloppe brune ridée, contenant un gros embryon huileux sans albumen.

Elle contient environ 30 % d'huile fixe, un ferment : la myrosine; un sel organique : le myronate de potassium, capable de produire environ 0 g. 50 % d'essence de moutarde, essence qui n'existe pas toute formée dans la graine.

C'est, en effet, en présence de l'eau et sous l'influence du ferment myrosine que le myronate de potassium se décompose en sulfate de potassium, glucose, et essence de moutarde qui est chimiquement un isosulfocyanate d'allyle.

Action de l'isosulfocyanate d'allyle sur les cultures de bacille coli.

Il convient, tout d'abord, d'avoir une idée de la solubilité de l'isosulfocyanate dans l'eau.

Préparons une solution alcoolique d'isosulfocyanate d'allyle, dont nous aurons à nous servir par la suite continuellement, et que nous appellerons toujours solution M.

Solution M :

Isosulfocyanate d'allyle	99 g.
Alcool à 90°	q. s. p. 1.000 cc.

Nous pouvons, en nous servant de la solution M, établir l'échelle suivante :

0 cc. 50 de solution M dans 2.000 cc. d'eau distillée :	dissolution complète.
0 cc. 50 de solution M dans 1.500 cc. d'eau distillée :	dissolution complète.
0 cc. 50 de solution M dans 1.000 cc. d'eau distillée :	dissolution complète.
1 cc. de solution M dans 1.000 cc. d'eau distillée :	diss. presque compl.
2 cc. de solution M dans 1.000 cc. d'eau distillée :	non dissous.
3 cc. de solution M dans 1.000 cc. d'eau distillée :	non dissous.

Ainsi, si on laisse tomber 1 cc. de solution M dans 1.000 cc. d'eau distillée, on constate, après agitation et un repos de

24 heures, un précipité à peine sensible : la dissolution n'est pas complète.

Mais, étant donné que 0 cc. 50 de solution M est entièrement soluble dans 1.000 cc. d'eau, nous dirons que l'isosulfocyanate d'allyle se dissout dans l'eau à une dose comprise entre M/500 et M/1.000, et cette approximation nous suffit.

1° Détermination du pouvoir infertilisant de l'isosulfocyanate d'allyle vis-à-vis des cultures de bacille coli.

A. — RECHERCHE DU POUVOIR INFERTILISANT DES SOLUTIONS M DILUÉES

SUR LE BACILLE COLI ENSEMENCÉ DANS L'EAU PEPTONÉE A 30 %.

Dans 3 ballons A, B et C, contenant : A, 200 cc.; B, 100 cc., et C, 100 cc., d'une même eau peptonée à 30 %, nous introduisons :

Dans A, $\frac{1}{10}$ de cc. de solution M;

Dans B, $\frac{1}{10}$ de cc. de solution M;

Dans C, $\frac{2}{10}$ de cc. de solution M;

Nous obtenons, en fait, les solutions suivantes :

A = M/2.000 B = M/1.000 C = M/500.

Après agitation dans chaque verre, nous ensemençons chacun des bouillons A, B et C, de 3 gouttes d'une même suspension de bacille coli dans l'eau distillée stérile.

Nous ensemençons, en outre, de la même façon, un tube d'eau peptonée à 3 % (tube témoin).

Après 24 heures de séjour à l'étuve à 37°, nous notons les résultats suivants :

Ballon A : culture de bacille coli avec faible réaction de l'indol.

Ballon B : bouillon clair et limpide. Pas de culture.

Ballon C : bouillon clair et limpide. Pas de culture.

Tube témoin : culture de bacille coli. Très nette réaction de l'indol.

Après 8 jours de séjour à l'étuve, les résultats sont les suivants :

Ballon A : culture de bacille coli.

Ballon B : culture de bacille coli, donnant très faible réaction de l'indol.

Ballon C : pas de culture. Bouillon clair.

Après 12 jours, mêmes résultats.

PREMIÈRE CONCLUSION. — L'isosulfocyanate d'allyle est infertilisant pour le bacille coli en milieu peptoné à 30 % à une dose comprise entre M/500 et M/1.000.

Ci-dessous tableau XIX, indiquant les premiers résultats :

TABLEAU XIX

Solutions d'isosulfocyanate	Après 24 heures		Après 8 jours		Après 12 jours	
	Culture	Indol (1)	Culture	Indol (1)	Culture	Indol (1)
M	+	+	+	++	+	++
2000						
M	0	0	+	+	+	++
1000						
M	0	0	0	0	0	0
500						
Témoin	+	+++	+	+++	+	+++

B. — RECHERCHE DU POUVOIR INFERTILISANT DES SOLUTIONS M DILUÉES, SUR LE BACILLE COLI ENSEMENCÉ DANS UNE EAU A LA FOIS PEPTONÉE A 1 % ET GLUCOSÉE A 20 %.

Nous avons pensé que l'eau peptonée ordinaire, c'est-à-dire celle qui contient 30 grammes par litre, pouvait, du fait de sa forte teneur en peptone, gêner l'action de l'isosulfocyanate d'allyle.

(1) Réaction de l'indol :

+ faible : couleur rose.

++ nette : couleur rougeâtre.

+++ très forte coloration : couleur rouge foncé.

Nous avons donc essayé des solutions nouvelles, et nous nous sommes arrêté à la formule suivante, que nous appelons, par la suite, eau peptonée formule F.

Eau peptonée formule F :

Peptone	1 g.
Glucose	20 g.
Eau	q. s. p. 1 litre.

Nous nous sommes assuré d'abord que dans ce milieu le bacille coli poussait aussi bien que dans l'eau peptonée à 30 %, qui est, en France, le milieu le plus couramment usité pour la culture du bacille coli.

Puis nous avons fait la série d'expériences suivantes :

PREMIÈRE EXPÉRIENCE : *Avec la solution M.*

Dans 2 ballons, A et B, contenant chacun 100 cc. d'eau peptonée formule F, nous ajoutons :

Ballon A, 1/10 cc. solution M;

Ballon B, 2/10 cc. solution M;

puis, dans chacun de ces 2 ballons, 3 gouttes de la même suspension de bacille coli dans l'eau distillée.

On place ces ballons et le ballon témoin (même eau peptonée, même ensemencement, mais ne contenant pas d'isosulfocyanate d'allyle), à l'étuve à 37°.

Après 2 jours, 8 jours et 10 jours de séjour à l'étuve, aucun des 2 ballons A et B n'a cultivé : les milieux sont restés parfaitement clairs.

Le ballon témoin, au bout de 24 heures, a donné une culture abondante.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE : *Avec la solution M/10.*

Solution M/10 :

Solution M.....	10 cc.
Alcool à 90°.....	q. s. p. 100 cc.

Dans 3 ballons, A, B et C, contenant chacun 100 cc. d'eau peptonée formule F, on ajoute :

Ballon A, $\frac{1}{10}$ cc.;

Ballon B, $\frac{2}{10}$ cc.;

Ballon C, $\frac{3}{10}$ cc.,

de solution M/10.

Ces 3 ballons sont additionnés de bacille coli et mis à l'étuve à 37°.

Au bout de 3 jours, 6 jours, 9 jours, aucune culture ne s'est développée : bouillons clairs.

Dans le ballon témoin, le bacille coli a poussé au bout de 24 heures et le bouillon est devenu trouble.

TROISIÈME EXPÉRIENCE : Avec la solution M/100.

Solution M/100 :

Solution M..... 10 cc.

Alcool à 90°..... q. s. p. 1.000 cc.

Dans une série de 5 ballons contenant chacun 100 cc. d'eau peptonée (formule F), on ajoute :

Ballon A, 1 cc. solution M/100;

Ballon B, $\frac{8}{10}$ solution M/100;

Ballon C, $\frac{4}{10}$ solution M/100;

Ballon D, $\frac{2}{10}$ solution M/100;

Ballon E, $\frac{1}{10}$ solution M/100,

et dans chacun on laisse tomber 3 gouttes d'une suspension de bacille coli dans l'eau stérile.

Mise à l'étuve à 37° pendant 48 heures.

RÉSULTATS :

Ballon A : bouillon clair, aucune culture;

Ballon B : bouillon clair, aucune culture;

Ballon C : bouillon clair, aucune culture;

Ballon D : bouillon clair, aucune culture;

Ballon E : bouillon clair, aucune culture.

Ballon témoin : culture très nette au bout de 24 heures.

Mêmes résultats au bout de 4, 6 et 8 jours.

Or, le ballon E, qui contient $\frac{1}{10}$ cc. de solution M/100 dans 100 cc. d'eau, contient, par conséquent, M/100.000 d'isosulfocyanate d'allyle.

CONCLUSION :

Nous disons donc que l'isosulfocyanate d'allyle est infertilisant pour le bacille coli à une dose inférieure à M/100.000.

Ci-dessous tableau XX, résumant ces résultats :

TABLEAU XX

Solutions d'isosulfocyanate	Après 3 jours Culture	Après 6 jours Culture	Après 9 jours Culture
Sur 100 cc. eau peptonée for- mule F. :			
$\frac{1}{10}$ solution M	0	0	0
$\frac{1}{10}$ solution $\frac{M}{10}$	0	0	0
$\frac{1}{10}$ solution $\frac{M}{100}$	0	0	0
Le ballon témoin donne dans chaque série d'expériences une culture abondante.			

REMARQUE. — Il est facile de montrer que l'alcool à 90°, aux doses où il est introduit dans le milieu de culture, est tout à fait étranger à l'action infertilisante que nous avons constatée. En effet :

3 ballons contiennent chacun 100 cc. de la même eau peptonée. Nous ajoutons à l'un $\frac{4}{10}$, à l'autre $\frac{3}{10}$ de cc. d'alcool à 90° pur, le troisième ballon restant comme témoin. Nous ensemençons dans chacun de ces 3 ballons 3 gouttes de la même suspension de bacille coli dans l'eau stérile.

Après 24 heures de séjour à l'étuve à 37°, la culture est aussi abondante dans les 3 ballons : la réaction de l'indol est identique (même couleur et même temps de réaction) et les ensemencements sur les milieux à réactions biochimiques donnent les mêmes résultats.

Si 4/10 ou 5/10 de cc. d'alcool à 90° n'ont aucune action sur notre milieu de culture de 100 cc., étant donné que nous n'avons jamais dépassé 2/10 de cc., nous sommes autorisé à dire que l'action infertilisante est bien propre à l'isosulfocyanate d'allyle.

2° Détermination du pouvoir antiseptique de l'isosulfocyanate d'allyle vis-à-vis des cultures de bacille coli.

A. — RECHERCHE DU POUVOIR ANTISEPTIQUE DE LA SOLUTION M SUR LE BACILLE COLI AYANT POUSSE DANS L'EAU PEPTONÉE A 30 %.

EXPÉRIENCE.

Etant donné 3 cultures identiques de bacille coli en eau peptonée à 3 % et âgées de 24 heures, nous ajoutons dans chacune d'elles :

Culture A, 1/10 cc. de solution M;

Culture B, 2/10 cc. de solution M;

Culture C, 4/10 cc. de solution M,

ce qui donne les proportions suivantes dans l'eau peptonée :

Culture A, M/1.000;

Culture B, M/500;

Culture C, M/250.

a) *Contact d'une heure.* — Après avoir agité les 3 cultures et laissé reposer pendant une heure, nous avons prélevé 1 cc. de chacune de ces 3 cultures, que nous avons repiqué en eau peptonée à 30 %.

Ces 3 repiquages donnent, après 24 heures d'étuve, 3 cultures nettes de bacille coli, avec réaction de l'indol pour chacune d'elles.

b) *Contact de 6 heures.* — Après avoir laissé en contact pendant 6 heures, mêmes repiquages des 3 cultures en eau peptonée.

Après 24 heures d'étuve à 37°, les 3 repiquages donnent 3 cultures de bacille coli (nette réaction de l'indol).

c) *Contact de 12 heures.* — Après un contact de 12 heures, nouveaux repiquages en eau peptonée des 3 cultures initiales.

Après 24 heures d'étuve à 37°, les 3 repiquages donnent 3 cultures de bacille coli (nette réaction de l'indol).

d) *Contact de 24 heures.* — Mêmes résultats.

e) *Contact de 48 heures.* — Mêmes résultats.

f) *Contact de 5 jours.* — Mêmes résultats.

PREMIÈRE CONCLUSION : L'isosulfocyanate d'allyle aux dilutions M/1.000, M/500, M/250, ne se montre pas bactéricide vis-à-vis des cultures de bacille coli âgées de 24 heures.

REMARQUE. — Il y a lieu de noter que notre solution M n'étant entièrement soluble dans l'eau, comme nous l'avons vu, qu'à une dose comprise entre M/500 et M/1.000 et très voisine de M/1.000, on ne peut augmenter la quantité de solution M dans les 100 cc. de milieu sans provoquer un précipité insoluble.

B. — RECHERCHE DU POUVOIR ANTISEPTIQUE DES SOLUTIONS M DILUÉES, SUR LE BACILLE COLI AYANT POUSSE DANS L'EAU PEP-
TONÉE FORMULE F.

a) Devant trouver un corps qui soit un solvant de l'isosulfocyanate d'allyle, nous avons pensé au méthylal.

Nous avons fait une solution moitié solution M isosulfocyanate d'allyle, moitié méthylal.

La solution alcoolique M d'isosulfocyanate d'allyle contient 99 g. pour 1.000 cc.,

$$\text{donc } \frac{1.000}{99} = 10 \text{ cc. } 10 \text{ qui contiennent 1 gramme d'isosulfocyanate.}$$

Nous faisons donc le mélange suivant, que nous appelons mélange P :

$$\left. \begin{array}{l} 10 \text{ cc. } 10 \text{ méthylal} \\ 10 \text{ cc. } 10 \text{ solution M} \end{array} \right\} = 20 \text{ cc. } 20 \text{ mélange P,}$$

contenant 1 gramme d'isosulfocyanate d'allyle.

b) D'autre part, au lieu de nous servir d'une eau peptonée à 30 %, nous nous servirons du milieu suivant, déjà étudié précédemment, et que nous avons appelé eau peptonée formule F :

Peptone	1 g.
Glucose	20 g.
Eau	q. s. p. 1.000 g.

PREMIÈRE SÉRIE D'ESSAIS.

Dans 3 ballons, contenant chacun une culture âgée de 24 heures, en milieu F (100 cc.), nous ajoutons :

Ballon A, 20 cc. 20 mélange P;

Ballon B, 10 cc. 10 mélange P;

Ballon C, 5 cc. 05 mélange P.

Dans un ballon témoin, contenant aussi 100 cc. du même bouillon de culture de bacille coli, nous ajoutons 20 cc. méthylal pur.

Au bout de 24 heures de contact, nous repiquons chacune des cultures des 4 ballons sur gélose simple, et les résultats sont les suivants :

Les ballons A, B et C n'ont donné, sur gélose, aucune culture;

Le ballon témoin n'a pas non plus cultivé.

DEUXIÈME SÉRIE D'ESSAIS.

Dans 3 ballons contenant 100 cc. de culture de bacille coli en milieu F, âgé de 24 heures, nous ajoutons :

Ballon A, 10 cc. 10 mélange P;

Ballon B, 5 cc. 05 mélange P;

Ballon C, 2 cc. 50 mélange P.

Dans un ballon témoin, nous ajoutons simplement 10 cc. 10 de méthylal pur.

Ces mélanges sont effectués le matin, à 8 heures. Le soir, à 7 heures, nous repiquons chacun des 4 bouillons en eau

peptonée (1 cc. de chacun des bouillons dans un tube d'eau peptonée ordinaire).

Le lendemain, on note les résultats suivants. Repiquage des :

Ballon A : Pas de culture;

Ballon B : Pas de culture;

Ballon C : Pas de culture;

Ballon témoin : Culture très nette, donnant réaction de l'indol.

TROISIÈME SÉRIE D'ESSAIS.

Dans 3 ballons, contenant 100 cc. de culture de bacille coli âgée de 24 heures, on ajoute :

Ballon A, 2 cc. mélange P;

Ballon B, 1 cc. mélange P;

Ballon C, 5/10 cc. mélange P.

Dans un ballon témoin, nous ajoutons simplement 1 cc. de méthylal pur.

Après 2 heures de contact, chacune des cultures est, après agitation, repiquée en eau peptonée ordinaire (à raison de 3 cc. de culture dans 15 cc. d'eau peptonée).

Après un séjour de 24 heures, aucun bouillon n'a donné de culture, sauf le bouillon témoin, qui a donné une culture abondante (avec très faible réaction de l'indol).

Après 9 heures de contact, nouveaux repiquages en eau peptonée.

Mise à l'étuve.

Aucun bouillon ne cultive, sauf le bouillon témoin.

Après 24 heures de contact, nouveaux repiquages en eau peptonée.

Mise à l'étuve : Pas de cultures au bout de 24 heures.

A noter que, dans toutes nos expériences, les repiquages (et tous ensemencements en eau peptonée) restent à l'étuve de 9 à 11 jours.

C'est ce qui nous permet de constater que les repiquages du ballon C — les seuls — donnent, après 70 heures de séjour à l'étuve, une faible culture.

Ainsi avons-nous déterminé la limite du pouvoir antiseptique de l'isosulfocyanate d'allyle vis-à-vis d'un bouillon de 100 cc. de culture de bacille coli âgée de 24 heures. Ce pouvoir antiseptique est compris entre 1 cc. et 5/10 de cc. du mélange P, soit à une dose comprise entre M/2.000 et M/4.000, et, en réalité, ainsi que d'autres expériences nous l'ont montré, à une dose très voisine de M/4.000.

Ci-dessous tableau XXI, résumant nos recherches sur la détermination du pouvoir antiseptique de l'isosulfocyanate d'allyle vis-à-vis des bouillons (100 cc.) de cultures de bacille coli âgées de 24 heures (bouillon formule F) :

TABLEAU XXI

MÉLANGE P : Volumes égaux solution M et méthylal	Les repiquages se font en eau peptonée après des temps de contact variables entre le mélange P et les cultures de bacille coli.
20 ^{cc} 20 mél. P ds 100 ^{cc} cult. de B. coli de 24 h.	Les repiquages ne donnent pas de culture.
10 ^{cc} 10 mél. P ds 100 ^{cc} cult. de B. coli de 24 h.	Les repiquages ne donnent pas de culture.
5 ^{cc} 05 mél. P ds 100 ^{cc} cult. de B. coli de 24 h.	Les repiquages ne donnent pas de culture.
2 ^{cc} 05 mél. P ds 100 ^{cc} cult. de B. coli de 24 h.	Les repiquages ne donnent pas de culture.
Ballon témoin 10 ^{cc} 10 méthylal pur dans 100 ^{cc} même culture B. coli.....	Les repiquages donnent une culture nette.
2 ^{cc} mél. P dans 100 ^{cc} culture de B. coli de 24 h.	Les repiquages ne donnent pas de culture.
1 ^{cc} mél. P dans 100 ^{cc} culture de B. coli de 24 h.	Les repiquages ne donnent pas de culture.
⁵ / ₁₀ ^{cc} mél. P dans 100 ^{cc} culture de B. coli de 24 h.	Les repiquages donnent cultures tardives et faibles.
Ballon témoin 1 ^{cc} méthylal pur dans 100 ^{cc} même culture de B. coli.....	Les repiquages donnent une culture nette.

ACTION DE L'ISOSULFOCYANATE DE PHÉNYLE SUR LES CULTURES DE BACILLE COLI

Nous avons recommencé avec l'isosulfocyanate de phényle les mêmes recherches que nous avons faites avec l'isosulfocyanate d'allyle.

Nous avons constaté que le pouvoir infertilisant de l'isosulfocyanate de phényle vis-à-vis des cultures de bacille coli est exactement le même que le pouvoir infertilisant de l'isosulfocyanate d'allyle.

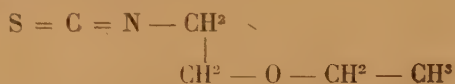
De même, nous avons constaté que le pouvoir antiseptique de l'isosulfocyanate de phényle vis-à-vis des cultures de bacille coli est exactement le même que le pouvoir antiseptique de l'isosulfocyanate d'allyle.

Et cela est tellement vrai que les séries d'expériences que nous avons faites avec l'isosulfocyanate de phényle dans le milieu peptoné F, sont superposables aux séries d'expériences que nous avons déjà faites avec l'isosulfocyanate d'allyle dans ce même milieu.

(Avec le milieu peptoné à 30 %, les séries d'expériences ne sont pas superposables, parce que le sulfocyanate de phényle est un peu moins soluble dans l'eau que le sulfocyanate d'allyle, mais, là encore, les résultats, au point de vue de l'action antiseptique et infertilisante, sont les mêmes.)

AUTRE ISOSULFOCYANATE

Nous avons conçu et préparé un autre isosulfocyanate :
l'isosulfocyanate d'éthoxyglycol



corps nouveau, dont nous avons voulu vérifier le pouvoir sur
les cultures de bacille coli.

Malheureusement nous n'avons pu obtenir qu'un produit
impur, par conséquent douteux, et dont l'action vis-à-vis des
cultures de bacille coli était cent fois plus faible environ que
celle des deux autres isosulfocyanates.

ACIDE MONOBROMACETIQUE BROMACETATES ET CHLORACETATES ORGANIQUES

I. — *Acide monobromacétique.*

L'acide monobromacétique a été étudié en France par M. le Professeur Genevois et ses collaborateurs : P. Cayrol, T. Nicolaïeff, A. Kirmann, Cozic, Quéré, Brisou, A. Radoeff, etc.

Ces auteurs ont montré l'action de l'acide monobromacétique sur les cellules des champignons inférieurs (levures, moisissures, etc.), sur les fermentations (fermentations lactiques, acétiques, alcooliques, etc.); ils ont déterminé la toxicité de l'acide monobromacétique et de ses esters par voie buccale et en injection sous-cutanée; bref, il sont arrivés à des résultats extrêmement intéressants, et, dès à présent, leurs travaux permettent notamment l'utilisation de l'acide monobromacétique et de certains de ses sels comme anti-ferments.

Etant données les propriétés remarquables de l'acide monobromacétique dans le domaine biochimique, nous avons voulu avoir une idée de son action sur les microbes, et en particulier sur le bacille coli.

Nous avons déjà constaté, pour l'avoir expérimenté au cours de l'été 1933, que l'addition de quelques gouttes d'une solution d'acide monobromacétique à 20 grammes p. 1.000 (1 goutte = 0 g. 001 au compte-gouttes normal) dans 1 litre de lait empêchait ce lait de « tourner » pendant les chaleurs.

(Il convient de signaler que le lait ainsi traité ne se distingue des autres laits ni par ses caractères organoleptiques, ni

par son action sur les voies digestives, ainsi que nous avons été quelques-uns, pendant plusieurs mois, à le noter. Ajouter à 1 litre de lait 5 ou 6 milligrammes d'acide monobromacétique constitue pratiquement un moyen sûr et inoffensif de conservation du lait.)

Mais si l'acide monobromacétique arrête les fermentations, il ne tue pas les ferments, et si, dans le lait, il prive le bacille coli de sa propriété de provoquer la coagulation, il ne détruit pas le bacille coli, ainsi qu'il est aisé, bactériologiquement, de s'en rendre compte.

EXPÉRIENCES.

Prenons 3 ballons stériles. Dans chacun d'eux versons 50 cc. d'un même lait du commerce et ajoutons 1 goutte d'une suspension de bacille coli dans l'eau physiologique.

Ajoutons ensuite notre solution aqueuse d'acide monobromacétique à 20 % à raison de 50 gouttes dans notre ballon n° 1 et 100 gouttes dans notre ballon n° 2 (une goutte = 1 mg. d'acide monobromacétique), le ballon n° 3 restant comme ballon témoin.

Nous avons :

Ballon n° 1 : 50 cc. lait + B. coli + 50 mg. d'acide monobromacétique;

Ballon n° 2 : 50 cc. lait + B. coli + 100 mg. d'acide monobromacétique;

Ballon n° 3 : 50 cc. lait + B. coli (ballon témoin).

Après un séjour de 48 heures à l'étuve à 37°, nous constatons les résultats suivants :

Ballon n° 1 : Non coagulé;

Ballon n° 2 : Non coagulé;

Ballon n° 3 (témoin) : Coagulé.

Nous repiquons chacune des 3 cultures sur gélose simple, et, après 18 heures d'étuve à 37°, nous obtenons les résultats suivants :

Gélose n° 1 : Culture très peu visible, développée à la partie inférieure de la gélose, au début seulement de la strie d'ensemencement;

Gélose n° 2 : Culture très peu visible, punctiforme;

Gélose n° 3 (témoin) : Culture nette, développée sur toute la trainée du fil de platine.

A noter que l'examen microscopique des cultures sur géloses n° 1 et n° 2 montrent des levures et des bacilles qui ne prennent pas le Gram.

TABLEAU XXII

Action de l'acide monobromacétique sur le bacille coli dans le lait.

50 cc. lait ensemencé par le bacille coli N° du ballon	TENEUR en acide monobromacétique	ETAT du lait après 48 heures d'étuve	PRÉSENCE (+) ou absence (—) du bacille coli
1	0	coagulé	+
2	0 g. 05	non coagulé	+
3	0 g. 10	non coagulé	+

Le bacille coli n'est pas tué; il a perdu sa propriété de faire coaguler le lait.

Pouvoir infertilisant et pouvoir antiseptique de l'acide monobromacétique vis-à-vis des cultures de bacille coli.

Nous avons cherché à déterminer le pouvoir infertilisant et le pouvoir antiseptique de l'acide monobromacétique vis-à-vis des cultures de bacille coli. Ce travail est condensé et résumé dans les tableaux XXIII et XXIV.

Précisons bien toutefois que tandis que l'acide monobromacétique est infertilisant vis-à-vis du bacille coli en eau peptonée à 30 ‰ à partir d'une dose M/250, il est infertilisant à partir d'une dose M/1.000 en eau peptonée à 1 ‰ et glucosée à 20 ‰.

De même, tandis que l'acide monobromacétique est antiseptique vis-à-vis du bacille coli en eau peptonée à 30 ‰ à partir d'une dose M/166, il est antiseptique à partir d'une dose M/250 en eau peptonée à 1 ‰ et glucosée à 20 ‰.

TABLEAU XXIII

Détermination du pouvoir infertilisant de l'acide monobromacétique (M = 139) en eau peptonée à 30 p. 1.000 et vis-à-vis du bacille coli.

DILUTION de la solution M d'acide monobromacétique dans l'eau peptonée à 30 p. 1000			CULTURE 24 heures après l'ensemencement du bacille coli	CULTURE 48 heures après cet ensemencement	REACTION de l'indol	EXAMEN des bacilles
1 cc. solution	$\frac{M}{10}$	dans 100 cc. eau peptonée = $\frac{M}{1000}$	+	+	+	Mobiles, ne prenant pas le Gram
2 cc. solution	$\frac{M}{10}$	dans 100 cc. eau peptonée = $\frac{M}{500}$	+	+	+	d°
4 cc. solution	$\frac{M}{10}$	dans 100 cc. eau peptonée = $\frac{M}{250}$	—	—	—	pas de bacilles
6 cc. solution	$\frac{M}{10}$	dans 100 cc. eau peptonée = $\frac{M}{166}$	—	—	—	d°
8 cc. solution	$\frac{M}{10}$	dans 100 cc. eau peptonée = $\frac{M}{125}$	—	—	—	d°

L'acide monobromacétique en eau peptonée à 30 p. 1.000 est infertilisant vis-à-vis du bacille coli à partir d'une dose M/250.

TABLEAU XXIV

Détermination du pouvoir antiseptique de l'acide monobromacétique (M = 139) vis-à-vis d'une culture de bacille coli âgée de 24 heures en eau peptonée (100^{cc}) à 30 p. 1.000.

Dilutions de la solution M d'acide monobromacétique dans la culture de bacilles coli en eau peptonée à 30 p. 1000		Examen des B. coli 24 H. après leur contact avec l'acide monobromacétique	Cultures après repiquages sur gélose lactosée et sur bouillon glucosé	Cultures après repiquages sur eau peptonée à 30 p. 1000
1 cc. solution	$\frac{M}{10}$ dans 100 cc. d'eau peptonée = $\frac{M}{1000}$	mobiles	+	+
2 cc. solution	$\frac{M}{10}$ dans 100 cc. d'eau peptonée = $\frac{M}{500}$	mobiles	+	+
4 cc. solution	$\frac{M}{10}$ dans 100 cc. d'eau peptonée = $\frac{M}{250}$	mobiles	+	+
6 cc. solution	$\frac{M}{10}$ dans 100 cc. d'eau peptonée = $\frac{M}{166}$	immobiles	—	—
8 cc. solution	$\frac{M}{10}$ dans 100 cc. d'eau peptonée = $\frac{M}{125}$	immobiles	—	—

L'acide monobromacétique tue le bacille coli en eau peptonée à 30 p. 1.000 à partir d'une dose M/166.

II. — *Bromacétates et chloracétates organiques.*

Pour simplifier l'exposé de nos recherches, nous présentons, dans les tableaux XXV et XXVI :

- 1° la détermination du pouvoir infertilisant du bromacétate de glycol, du bromacétate d'éthylglycol, du chloracétate de glycol, du chloracétate d'éthylglycol;
- 2° la détermination du pouvoir antiseptique de ces mêmes corps.

TABLEAU XXV

Détermination du pouvoir infertilisant de bromacétates et chloracétates organiques.

L'eau peptonée utilisée ici contient 1 gramme de peptone et 20 grammes de glucose par litre.

Etude du pouvoir infertilisant des sels ci-dessous	Dilut. à $\frac{M}{10.000}$ (1) dans 100 cc. d'eau peptonée		Dilut. à $\frac{M}{5.000}$ (2) dans 100 cc. d'eau peptonée		Dilut. à $\frac{M}{1.000}$ (3) dans 100 cc. d'eau peptonée	
	Après 24 h.	Après 48 h.	Après 24 h.	Après 48 h.	Après 24 h.	Après 48 h.
Bromacétate de glycol.....	—	+	—	—	—	—
Bromacétate d'éthylglycol...	+	+	—	+	—	—
Chloracétate de glycol.....	+	+	+	+	—	—
Chloracétate d'éthylglycol...	+	+	+	+	—	—

(1) 1/10 cc. de solution M/10 dans 100 cc. eau peptonée = M/10.000.
 (2) 2/10 cc. de solution M/10 dans 100 cc. eau peptonée = M/5.000.
 (3) 1 cc. de solution M/10 dans 100 cc. eau peptonée = M/1.000.

Avant de présenter le tableau XXVI, quelques mots seulement pour préciser que c'est dans des bouillons (100 cc. et formule F) de cultures de bacilles coli (âgées de 24 heures) que nous introduisons .

1/10 de cc., 2/10 de cc. et 1 cc.

de solutions hydro-alcooliques M de chacun des 4 corps que nous étudions.

Après 24 heures de contact et agitation, nous prélevons

5 cc. de chaque culture, quantités qui sont chacune repiquées en eau peptonée. Nous n'avons plus qu'à noter les résultats.

TABLEAU XXVI
Détermination du pouvoir antiseptique des bromacétates
et chloracétates organiques.

CORPS EN SOLUTIONS hydro-alcooliques M	SOLUTIONS M HYDRO-ALCOOLIQUES dans 100cm ³ de cultures de bacille coli			
	1/10 de cc., soit M/1.000	2/10 de cc., soit M/500	4/10 de cc., soit M/250	1 cc., soit M/100
Bromacétate de glycol.....	+	+	+	—
Bromacétate d'éthylglycol	+	+	+	—
Chloracétate de glycol	+	+	+	—
Chloracétate d'éthylglycol	+	+	+	—

CONCLUSION :

A la dose de M/5.000, le bromacétate de glycol est infertili-
sant vis-à-vis des cultures de bacille coli.

A la dose de M/100, ce même corps est antiseptique vis-
à-vis des cultures de bacille coli.

Ce sont là des pouvoirs infertilisants et antiseptiques rela-
tivement importants.

Notons que les 4 bromacétates et chloracétates étudiés se
rapprochent beaucoup quant à leur action sur les cultures de
bacille coli.

RESUME

Notre *Contribution à la biologie du bacille coli* fait connaître notamment :

I. — *Un procédé personnel d'isolement du bacille coli.*

Il s'agit d'une méthode générale qui permet, *en milieu solide* :

- 1° l'ensemencement *direct* d'une eau;
- 2° l'ensemencement en stries;
- 3° l'ensemencement *direct* d'un sang;

et, du même coup, la culture, la différenciation, la numération, outre du bacille coli, des divers germes ensemencés.

II. — *Les résultats de la recherche systématique du bacille coli dans le contenu intestinal de certaines catégories d'animaux.*

Nous exposons nos recherches du bacille coli dans le contenu intestinal :

- 1° d'animaux marins;
- 2° d'animaux à la fois marins et d'eau douce;
- 3° d'animaux d'eau douce;
- 4° d'animaux à la fois d'eau douce et terrestres;
- 5° d'animaux terrestres;
- 6° d'animaux aériens.

III. — *Le pouvoir infertilisant et antiseptique de substances diverses sur les cultures de bacille coli.*

Nous étudions, sur les cultures de bacille coli, l'action :

- 1° de l'ail;
- 2° du tabac à fumer;
- 3° du jus de citron frais;
- 4° de l'essence de moutarde (isosulfocyanate d'allyle);
- 5° de l'isosulfocyanate de phényle;
- 6° de l'acide monobromacétique;
- 7° de bromacétates et de chloracétates organiques.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLIOT (H.). — *C. R. de la Soc. de biol.*, 10 mai 1919, p. 437-439.
- ALVAREZ. — Etude bactériologique du lait mis dans le commerce à Bordeaux. Thèse méd. Bordeaux, 1934.
- AUBEL (E.). — Remarques sur la croissance du *B. coli* en milieu chimiquement défini. *Ann. de physiologie et de physicochimie biologique*, n° 1, 1926.
- AUBEL et GENEVOIS. — Etat actuel de la question des ferments. Gauthier et Villars, Paris, 1929.
- BEGBIE (R.-S.) et GIBSON (H.-I.). — Présence du bacille typhique et et paratyphique dans les eaux d'égouts. *Rev. d'hyg.*, 52, 786, 1931.
- BISSEL (W.-G.). — *New York med. Journ.*, 1903, p. 991.
- BOINET et TESSONNIÈRE. — Fièvre typhoïde et coquillage. *Rev. d'hyg.*, 52, 146, 1930.
- Fièvre typhoïde causée par l'ingestion de coquillages, particulièrement des huîtres. *Bull. Ac. méd.*, 101, 63, 15 janv. 1929.
- Fièvre typhoïde et coquillages. *Bull. Ac. méd.*, 100, n° 44, p. 1440, 1928.
- BORDE (F.). — Le contrôle sanitaire ostréicole (rapports). *Bull. de l'Ass. ostr. et de la Stat. de contr. sanit. du Bassin d'Arcachon*, Cadoret, 1927, n° 1.
- BRISOU (J.). — Action de l'acide monobromacétique et de ses esters sur la fermentation lactique et la naissance des tissus normaux et cancéreux. Thèse doct. de l'Université de Bordeaux (mention sciences), 1933.
- *C. R. de la Soc. de biol.*, 1933, t. 112, p. 1390 et 1391.
- Recherches sur l'état de contamination des huîtres livrées à la consommation bordelaise. Thèses méd. Bordeaux, 1933.
- CARRIEU et PAPPAS. — Coquillages et fièvre typhoïde. *Rev. d'hyg. et de méd. préventive*, t. LIV, n° 3, mai 1932.
- CASSAËT. — Du régime microbien de la Garonne devant Bordeaux. Congrès français de méd., 2^e session, Bordeaux, 1895.
- CAYROL (P.) et GENEVOIS (L.). — *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1931, t. 192, p. 1494.

CAYROL (P.). — *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1931, t. 193, p. 446.

CHAPHEAU (H.). — Action de l'iode libre sur les hématies du siponcle et les tissus de l'huître. *Bull. Stat. biol. Arcachon*, 27, 7-18, 1930.

— Recherche sur le métabolisme cellulaire de quelques invertébrés marins. Thèse doct. de l'Université de Bordeaux (mention sciences), 1932.

COUTIÈRE. — La chimiotaxie. *Biologie médicale*, mars 1929.

COZIE (M.). — *C. R. de la Soc. de biol.*, 1933, t. 112, p. 1387.

DIENERT et ETRILLART (P.). — Recherche et numération directe sur milieu solide du bacille coli contenu dans un grand volume d'eau. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XLIII, oct. 1929, n° 10.

— Sur la recherche du bacille coli dans les eaux, *Ann. Inst. Pasteur*, t. XLVI, mars 1931, n° 3.

DUJARRIC DE LA RIVIÈRE (R.) et T.-H. CHU. — Sur quelques techniques d'isolement et d'identification des microbes des eaux. *Rev. d'hyg. et de méd. préventive*, t. LIII, avril 1931, n° 4.

DUVERGER (J.). — Contribution à l'étude des eaux d'alimentation de la ville d'Arcachon. Thèse doct. de l'Université de Bordeaux (mention pharmacie), 1931.

FLEURY (G.). — Un nouveau procédé d'isolement du bacille coli dans l'eau. *Bull. des trav. de la Soc. de pharm. de Bordeaux*, t. III, 1931.

— Recherches expérimentales sur le bacille coli en milieu marin et chez quelques poissons marins. Thèse doct. de l'Université de Bordeaux (mention pharmacie), 1931 (Prix des thèses.)

— Un intestin de mammifère sans bacille coli. *Bull. des trav. de la Soc. de pharm. de Bordeaux*, t. II, 1932.

— Action de l'ail sur les cultures de bacille coli et les cultures de bacille typhique. *Bull. des trav. de la Soc. de pharm. de Bordeaux*, t. III, 1932.

— Sur la recherche qualitative et quantitative du *B. coli* dans les eaux minérales. Comm. à l'Acad. de méd., 21 févr. 1933 (Médaille d'honneur de l'Hygiène publique).

— Action du jus de citron frais sur les cultures de bacille coli et sur les cultures de bacille typhique. *Bull. des trav. de la Soc. de pharm. de Bordeaux*, t. II, 1933.

— Note sur le bacille coli chez les mammifères marins. *C. R. de l'Acad. des sc.*, 15 mai 1933, t. 196, p. 1547.

- Action du tabac à fumer sur les cultures de bacille coli et sur les cultures de bacille typhique. *Bull. des trav. de la Soc. de pharm. de Bordeaux*, t. III, 1933.
- Le bacille coli et les crustacés marins. — Note sur le bacille coli chez les céphalopodes. — Le bacille coli se rencontre-t-il dans l'intestin des poissons à la fois marins et d'eau douce? *Bull. des trav. de la Soc. de pharm. de Bordeaux*, t. 1, 1934.
- Note sur le bacille coli chez l'huître. — Le bacille coli et le contenu intestinal de l'huître, *Bull. des trav. de la Soc. de pharm. de Bordeaux*, t. IV, 1934.
- FLEURY (G.) et CASTERA (R.). — Un nouveau procédé d'hémoculture. *Bull. de l'Acad. de méd.*, 29 mai 1934, t. CXI, n° 20.
- GENEVOIS (L.) et NICOLAÏEFF (T.). — *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1932, t. 194, p. 1270.
- GENEVOIS (L.), CAYROL (P.), et NICOLAÏEFF (T.). — *C. R. de la Soc. de biol.*, 1933, t. 112, p. 1382.
- GENEVOIS (L.), et KIRMAN (A.). — *C. R. de la Soc. de biol.*, 1933, t. 112, p. 1383.
- GENEVOIS (L.) et NICOLAÏEFF (T.). — *C. R. de la Soc. de biol.*, 1933, t. 112, p. 1385.
- GENEVOIS (L.) et BRISOU (J.). — *C. R. de la Soc. de biol.*, 1933, t. 112, p. 1389.
- GENTON (P.). — Contribution à l'étude du pouvoir antiseptique et infertilisant des essences de cannelle et des dérivés de la série cinnamique. Thèse doct. de l'Université de Lyon (mention pharmacie), 1932.
- GOLDIE (H.). — Sort des microbes pathogènes dans les eaux d'égout. *Rev. d'hyg. et de méd. prévent.*, t. LV, n° 1, janv. 1933.
- GUIART et GRIMBERT. — Précis de diagnostic chimique, microscopique et parasitologique.
- GUILLARD (M.-A.). — Analyse de l'eau : méthodes françaises et étrangères. *Annales d'hygiène publique*, 1927.
- GUILLEMIN (J.-H.). — Essais sur la bactériologie de l'eau de mer. Thèse de doct. de l'Université de Bordeaux (mention pharmacie), 1901.
- HAUDUROY. — Les vaccins et le bactériophage dans les colibacillosés. Rapport au Congrès de thérapeutique, Paris, 1933.
- ISHIMAYA. — Nouveau milieu coloré pour la différenciation des paratyphiques A et B. *Centrl. f. Bakt.*, 111, 24, 1929.

- JOUBIN. — La vie dans les océans.
- KITASSATO. — *Zeitschrift für hygiene*, 1888, III, p. 404.
- LABIT. — Le colibacille dans l'eau de boisson et la fièvre typhoïde. *Rev. d'hyg. et de police sanit.*, 1912, p. 461.
- LAGAYE (M.). — Le citron en thérapeutique. Thèse doct. en méd., Bordeaux, févr. 1922, p. 29 à 31.
- LAGRANGE. — Sur l'action à distance exercée par certains colibacilles. *C. R. Soc. biol.*, 109, 77, 1932.
- LALESQUE (F.). — Arcachon, ville de santé. Masson, 1919.
- LEGENDRE (J.). — La mer et l'égout. *Presse méd.*, 24 janv. 1934, n° 7.
- LE MAIGNAN DE KERANGAT. — Origine ostréaire de la fièvre typhoïde. Thèse doct. en méd., Bordeaux, 1903.
- LLAGUET (B.). — Contrôle hygiénique de l'huître à la Station d'Arcachon. *Bull. soc. pharm. de Bordeaux*, t. III, 1923.
- LEVINE (M.). — On the correlation of the Vosges Proskauer's and methyl red reactions in the colon-aerogenes group of bacteria. *Journ. Inf. Dis.*, t. XVIII.
- *Ibid.*, t. XXIII, 1918. American Public Health Association, Standard methods of Water Analysis, 5 th. ed. 1925 « Eosin-methylene blue agar ».
- On the significance of the Vosges and Proskauer's reaction. *Journal of Bacteriology*, 1916.
- LEVINE, WELTER and JOHNSON. — The Vosges Proskauer reaction and correlated reactions of colilike organisms. *Journ. Inf. Dis.*, t. XXI, 1917.
- MANDOUL (H.). — Enseignement de microbiologie du Professeur Mandoul. Notes et techniques recueillies par Girard.
- MARCOTTE. — Quelques essais sur les réactions de l'huître et du colibacille. *Le mouvement sanitaire* n° 129, janv. 1935.
- MONTIN. — Colibacille et milieu intestinal chez les poissons d'eau douce. Thèse doct. de l'Université de Bordeaux (mention pharmacie), 1933.
- MOREL et ROCHAIX. — *C. R. à la Soc. de biol.*, 1921, t. 2; 1922, t. 86; 1927, t. 2.
- MULLER. — *Munch. Mediz. Wochenschrift*, 3 mars 1914.
- NEVOT (D^r A.). — Recherche du colibacille dans le lait. *Le lait*, t. XIII, janv.-févr. 1933, p. 121.
- OLITZKI. — Emploi de nitroantraquinone dans la différenciation des germes du groupe coli-paratyphique. *Centl. f. Bakt.*, I, II, 113, 492, 1929.
- ORLA (D^r Jensen). — Recherches sur les laits chauffés. La pasteurisation basse. *Le lait*, janv.-févr. 1933, n° 21-122.

- PERRIER (R.). — Zoologie. Masson.
- PHILIBERT. — Manuel de bactériologie médicale.
- PINTO. — Action de l'éther de pétrole sur le colibacille et le bacille typhique à l'état sec et à l'état humide. *C. R. Soc. biol.*, 102, 233, 1929.
- Procédé permettant de déceler le bacille typhique à la dose de 19 bacilles par litre d'eau. *C. R. Soc. biol.*, 102, 237, 1929.
- PORCHER (A.). — Réflexions sur la pasteurisation. *Le lait*, t. XIII, janv.-févr. 1933.
- POT (A.-W.). — Ueber varianten des *B. paratyphi B* die aus Traubenzucker Kein gas bilden. *Centl. f. Bakt.*, I, 125, 504, 1932.
- QUÉRÉ (H.). — *C. R. de la Soc. de biol.*, 1932, t. 110, p. 958.
- *C. R. de la Soc. de biol.*, 1933, t. 112, p. 1388.
- RADOEFF (A.). — *C. R. de la Soc. de biol.*, 1933, t. 112, p. 1393.
- RAMARONI. — Fièvre typhoïde et coquillages, *Rev. d'hyg.*, 645, 1897.
- RAMSINE. — Variétés régressives dans le groupe des bacilles d'Eberth et des paratyphiques. *C. R. de la Soc. biol.*, 92, 1188, 1925.
- REMLINGER. — Quelle importance faut-il accorder à la présence des poissons dans les eaux d'alimentation des villes? *Rev. d'hyg.*, oct. 1912.
- Du rôle des poissons dans la transmission des maladies infectieuses et la contamination des eaux potables. *Rev. d'hyg.*, avril 1927.
- RICHET (C.) fils et GIGON (A.). — *C. R. de la Soc. de biol.*, 29 mars 1919.
- RIEGEL. — *Bull. de l'Inst. Pasteur*, 1907.
- ROCHAIX et HUTINETTE. — Antagonisme du colibacille et des bactéries putrides. *C. R. Soc. de biol.*, 106, 669, 1931.
- SABRAZÈS (J.). — *Gaz. hebd. des sc. méd. de Bordeaux*, 28 août 1921.
- Examen bactériologique des beurres faits par Dienert à Paris. *Gaz. hebd. sc. méd. de Bordeaux*, 1932.
- SABRAZÈS et MARCANDIER. — Action du vin sur le bacille d'Eberth. *Ann. Inst. Pasteur*, 312, 1907.
- SABRAZÈS (J.), MOUREAU (M.) et LAGAYE (M.). — *Gaz. hebd. des sc. méd. de Bordeaux*, 15 janv. 1922.
- SARTORY (A.). — Guide pratique des principales manipulations bactériologiques à l'usage des pharmaciens.
- SEYDEL. — Sur certaines souches de *B. coli* ayant perdu la propriété de faire fermenter le lactose. *C. R. Soc. biol.*, III, 107, 1932.

- STASSANO (H.). — Lait maternel. Lait cru de bétail. Même lait assaini par un chauffage rationnel approprié. Conférence tenue (12 nov. 1930), à l'Institut d'hygiène de l'Université de Copenhague.
- TANNEZO KABESHIMA. — Le poisson de mer considéré dans ses rapports avec le vibron cholérique qui peut exister dans l'eau. *Rev. d'hyg.*, 1927.
- TEAGUE. — A new culture medium for the isolation of *B. typhosus* from stools, *Journ. Inf. Dis.*, t. XVIII, 1916.
- TETSU-OTO. — Numerical variation on surviving period of *Bac. typhosus* on fresh aquatic products. *Jap. Journ. Exp. Med.*, 8, 1930, in *Bull. Inst. Past.*, 29, 507.
- VOLPINO. — Nouveau milieu de culture pour l'isolement du bacille typhique. *Boll. sez. Italiana Soc. Intern. Microb.*, II, 156, 1930, in *Bull. Inst. Past.*, 28, 692, 1930.
- WILSON. — Isolation of *Bacil. typhosus* from sewage and shell-fish. *Brit. Med. Journ.*, 1, 1061, juin 1928.
-

DEUXIÈME THÈSE

Données nouvelles sur les gastéropodes hôtes intermédiaires des trématodes.

VU : *Le Doyen,*
J. CHAINE.

VU, BON A IMPRIMER :
Le Président,
L. GENEVOIS.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Bordeaux, le 24 février 1935.
Le Recteur de l'Académie,
A. TERRACHER.

48.8.9. — Bordeaux, Imprimerie-Librairie de l'Université, 6, pl. St-Christoly. — 1935.
